

**UJI TOKSISITAS MINYAK GORENG BEKAS YANG TERKONTAMINASI
PLASTIK TERHADAP KADAR MDA (MALONDIALDEHIDE) DAN
HISTOPATOLOGI ORGAN JEJUNUM PADA
HEWAN COBA TIKUS (*Rattus novergicus*)**

SKRIPSI

Oleh :

RUMENEGA NUGRAHA ENCEPHALA
125130105111004



PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2018

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**Uji Toksisitas Minyak Goreng Bekas Yang Terkontaminasi Plastik Terhadap Kadar MDA
(Malondialdehyde) dan Histopatologi Organ Jejenum Pada Hewan Tikus
(*Rattus novergicus*)**

**Oleh :
Rumenega Nugraha Encephala
125130105111004**

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal 24 September 2018
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Dosen Pembimbing I

Dosen Pembimbing II

Prof . Dr. Aulanni'am, drh., DESdrh. Viski Fitri Hendrawan, M. Vet

NIP. 19600903 198802 2 001

NIK. 1988518 201504 1 003

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Brawijaya

Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES

NIP. 19600903 198802 2 001

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Rumenega Nugraha Encephala

NIM : 125130105111004

Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan

Penulisan Skripsi berjudul:

Uji Toksisitas Minyak Goreng Bekas Yang Terkontaminasi Plastik Terhadap Kadar MDA (Malondialdehyde) dan Histopatologi Organ Jejunum Pada Hewan Tikus (*Rattus novergicus*).

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 29 Juni 2018
Yang menyatakan,

(Rumenega Nugraha Encephala)
NIM. 125130105111004

UJI TOKSISITAS MINYAK GORENG BEKAS YANG TERKONTAMINASI PLASTIK TERHADAP KADAR MDA (MALONDIALDEHIDE) DAN HISTOPATOLOGI ORGAN JEJUNUM TIKUS (*Rattus novergicus*)

ABSTRAK

Seringnya penggunaan plastik sebagai pembungkus makanan dapat menyebabkan terjadinya gangguan metabolisme terhadap tubuh manusia. Tujuan dilakukannya penelitian ini yaitu untuk mengetahui pengaruh pemberian minyak goreng bekas yang terpapar senyawa plastik terhadap kadar ROS (*Reactive Oxygen Species*) terhadap histopatologi organ jejunum. Penelitian ini menggunakan tikus putih (*Rattus novergicus*) jantan berumur 8-12 minggu yang dibagi menjadi 4 kelompok dan terdiri dari 5 ekor tikus pada setiap kelompok. Kelompok 1 tidak diinduksi dengan minyak goreng yang terkontaminasi plastik dan berfungsi sebagai kelompok kontrol negatif. Tikus kelompok 2, 3, dan 4 diberikan campuran minyak goreng dan plastik dengan cara pemberian per oral dengan dosis tiap kelompok sebanyak 0,5 mL/ekor/hari, 1 mL/ekor/hari, dan 1,5 mL/ekor/hari. Parameter yang diamati adalah gambaran histopatologi organ jejunum tikus dan pengukuran kadar MDA (Malondialdehyde). Data kadar MDA diolah dengan metode *one way* ANOVA dengan tingkat kepercayaan 95%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa paparan minyak goreng yang terkontaminasi plastik dapat meningkatkan MDA jejunum sampai 98,49% dan menyebabkan kerusakan struktur vili serta kematian sel epitel pada jejunum.

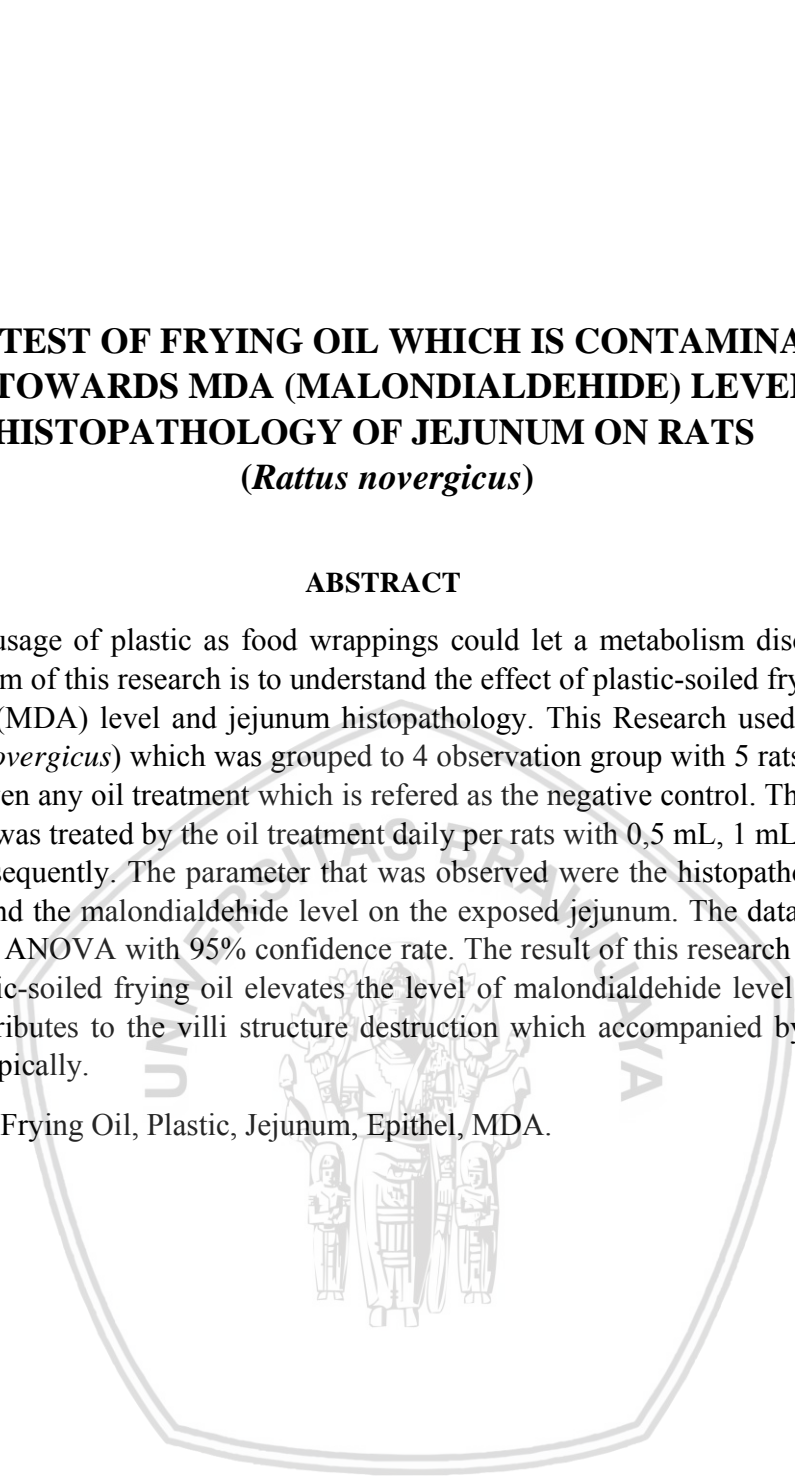
Kata Kunci : Minyak, Plastik, Jejunum, Epitel, MDA.

TOXICITY TEST OF FRYING OIL WHICH IS CONTAMINATED BY PLASTIC TOWARDS MDA (MALONDIALDEHIDE) LEVELS AND HISTOPATHOLOGY OF JEJUNUM ON RATS (*Rattus novergicus*)

ABSTRACT

Frequent usage of plastic as food wrappings could let a metabolism disorder in human body arise. The aim of this research is to understand the effect of plastic-soiled frying oil towards malondialdehyde (MDA) level and jejunum histopathology. This Research used 8 to 12 weeks old rats (*Rattus novergicus*) which was grouped to 4 observation group with 5 rats each. The first group was not given any oil treatment which is referred as the negative control. The second, third, and fourth group was treated by the oil treatment daily per rats with 0,5 mL, 1 mL, and 1,5 mL of oil treatment subsequently. The parameter that was observed were the histopathological images of rats jejunum and the malondialdehyde level on the exposed jejunum. The data was processed by using *one way* ANOVA with 95% confidence rate. The result of this research reveals that the exposure of plastic-soiled frying oil elevates the level of malondialdehyde level on jejunum by 98,49% and contributes to the villi structure destruction which accompanied by epithelial cell death in microscopically.

Keywords: Used Frying Oil, Plastic, Jejunum, Epithel, MDA.



KATA PENGANTAR

Alhamdulillah Robbil'alamiin, segala puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga Penulis dapat menyelesaikan penulisan Proposal Skripsi yang berjudul **"Uji Toksisitas Minyak Goreng Bekas Yang Terkontaminasi Komponen Plastik Terhadap Kadar MDA (Malondealdehide) dan Histopatologi Organ Jejunum pada Hewan Coba Tikus (*Rattus norvegicus*)"**. Penelitian ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan pada Fakultas Kedokteran Hewan, Program Studi Pendidikan Dokter hewan, Universitas Brawijaya. Penulis menyadari keterbatasan dalam penulisan ini, dengan segala upaya yang tidak lepas dari bimbingan, bantuan serta dorongan dari berbagai pihak yang sangat berperan dalam penyusunan Proposal Skripsi ini.

Untuk itu, dengan segala kerendahan hati pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih dan penghargaan kepada:

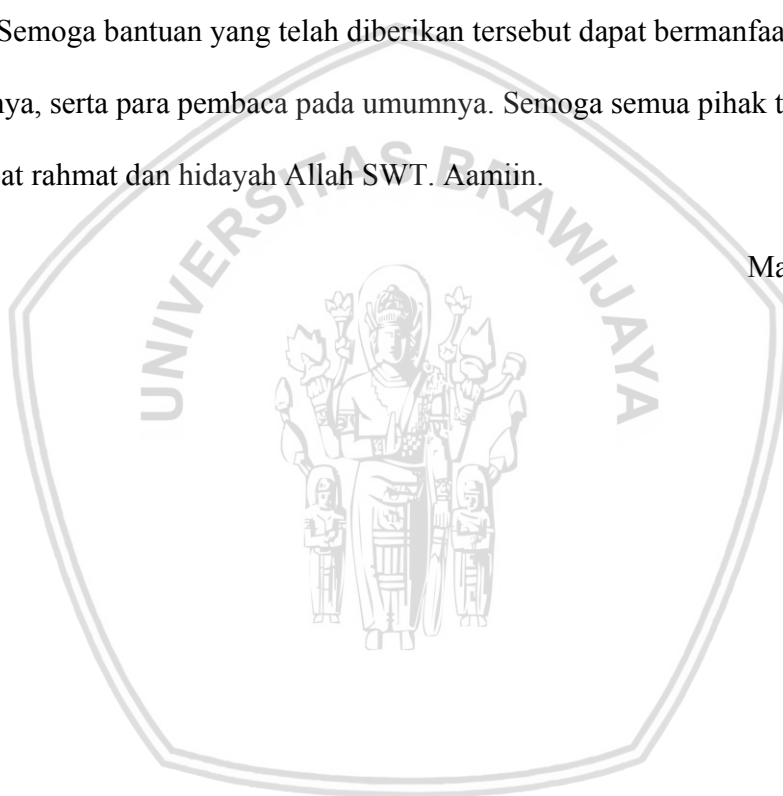
1. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES. sebagai Pembimbing I atas segala bimbingan, waktu, dan arahan yang telah diberikan kepada penulis.
2. drh. Viski Fitri Hendrawan, M. Vet. sebagai Pembimbing II atas segala bimbingan, kesabaran, nasihat, waktu, dan arahan yang diberikan tiada hentinya kepada penulis.
3. drh. Dian Vidiastuti, M.Si dan Dhita Evi Aryani, S.Farm, Apt.M.Farm, Klin selaku dosen penguji yang telah meluangkan waktu dan memberikan saran kepada penulis.
4. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya .
5. Keluarga tercinta, Ayah, Ibu, adik, dan saudara yang tiada henti memberikan dorongan serta motivasi kepada penulis.

6. Kelompok penelitian, Bintar Garda, Rizqiza Andro F., Arsvinda Prabarini P, Bagus I.D., Rizal Nur F.
7. Kawan-kawan seperjuangan seluruh angkatan 2012 yang tidak bisa disebutkan satu-persatu.
8. Seluruh staf dan karyawan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya, yang telah membantu proses administrasi dalam pembuatan tugas akhir.

Semoga bantuan yang telah diberikan tersebut dapat bermanfaat bagi penulis khususnya, serta para pembaca pada umumnya. Semoga semua pihak tersebut mendapat rahmat dan hidayah Allah SWT. Aamiin.

Malang, Mei 2016

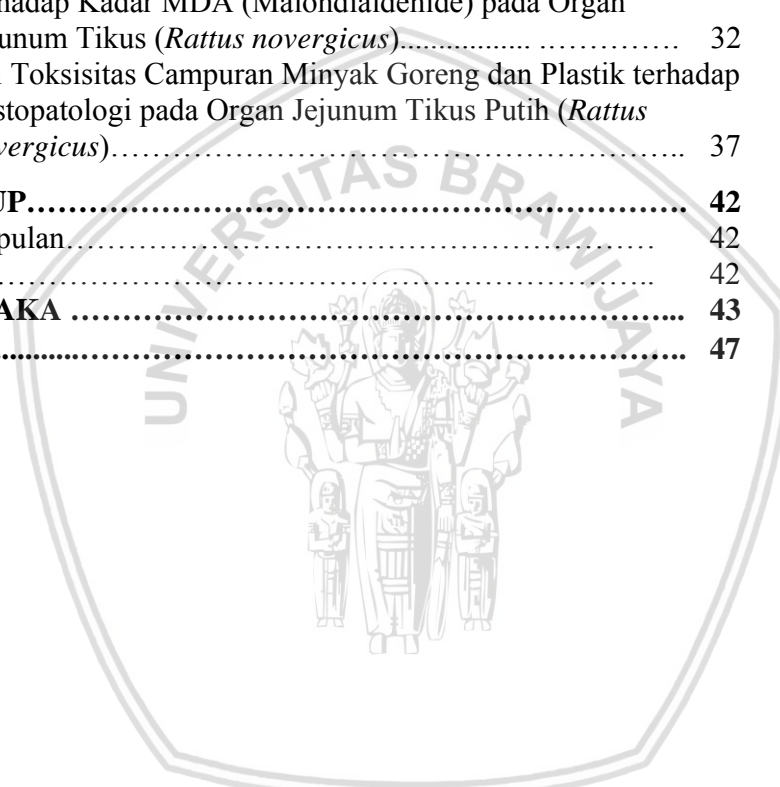
Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
LEMBAR PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah	4
1.4 Tujuan Penelitian	4
1.5 Manfaat Penelitian	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Minyak goreng	6
2.2 Plastik	7
2.2.1 Plastik Polyethylene	9
2.3 Jejenum	16
2.4 Malondialdehida (MDA).....	18
2.6 Tikus Putih	20
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	22
3.1 Kerangka Konseptual	22
3.2 Hipotesis Penelitian	24
BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN	25
4.1 Tempat dan Waktu Penelitian	25
4.2 Sampel	25
4.3 Rancangan Penelitian	25
4.4 Perhitungan Statistika	26
4.5 Variabel Penelitian.....	26
4.6 Alat dan Bahan	27
4.6.1 Alat	27
4.6.2 Bahan	27
4.7 Karakteristik Sampel Penelitian	27
4.7.1 Kriteria Inklusi	27
4.7.2 Karakteristik Eksklusi	28
4.8 Prosedur Penelitian	28
4.8.1 Aklimatisasi	28

4.8.2	Pakan Standar	29
4.8.3	Induksi Campuran Minyak dan Plastik pada Hewan Coba.....	29
4.8.4	Euthanasia Hewan Coba	29
4.8.5	Pembuatan Preparat Histopatologi Jejunum.	29
4.8.6	Pengukuran Kadar MDA (Malondialdehyde) pada Jejunum.	30
4.8.7	Pewarnaan Hematoksin dan Eosin (HE)	31
4.9	Analisa Data	32
BAB 5.	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	32
5.1	Uji Toksisitas Campuran Minyak Goreng dan Plastik terhadap Kadar MDA (Malondialdehyde) pada Organ Jejunum Tikus (<i>Rattus novergicus</i>).....	32
5.2	Uji Toksisitas Campuran Minyak Goreng dan Plastik terhadap Histopatologi pada Organ Jejunum Tikus Putih (<i>Rattus novergicus</i>).....	37
BAB 6.	PENUTUP.....	42
6.1	Kesimpulan.....	42
6.2	Saran.....	42
DAFTAR PUSTAKA	43
LAMPIRAN	47



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 4.1 Rancangan Kelompok Penelitian	25
Tabel 5.1 Perhitungan Kadar MDA.....	33



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 2.1 Kode dalam kemasan plastik.....	15
Gambar 2.2 Histologi Normal Pada Jejunum.....	17
Gambar 2.3 Organ Jejunum dan Ileum.....	18
Gambar 2.4 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	21
Gambar 3.1 Kerangka Konseptual	22
Gambar 5.2 Histopatologi organ jejunum tikus (pewarnaan HE 100x dan 400x).	37



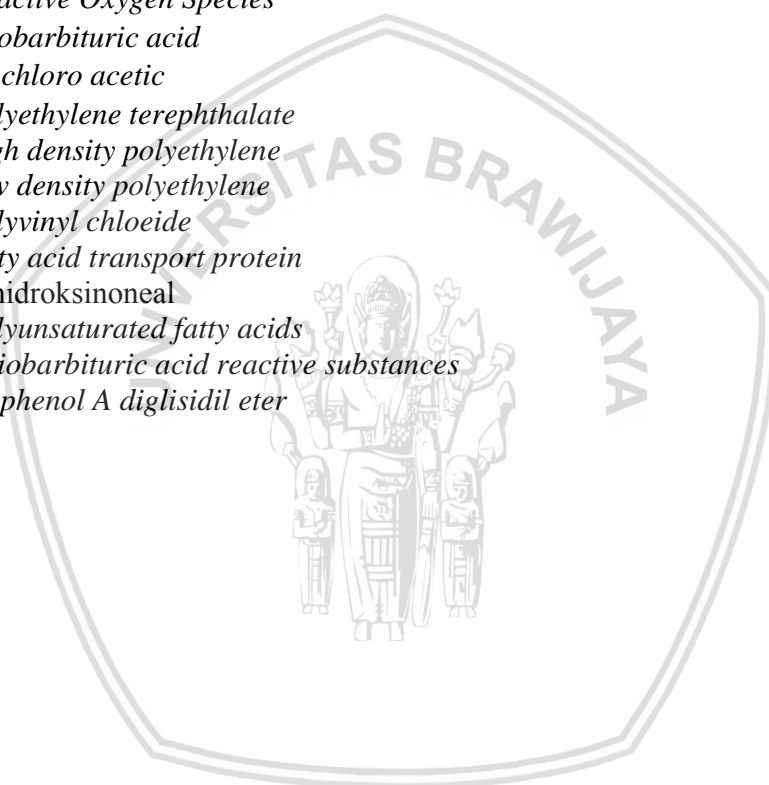
DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
Lampiran 1. Sertifikasi Laik Etik	48
Lampiran 2. Kerangka Operasional	49
Lampiran 3. Pemberian Minyak Bekas Gorengan Plastik	50
Lampiran 4. Pembuatan Preparat Histopatologi Jejunum	51
Lampiran 5. Pewarnaan Hematoxylin Eosin	52
Lampiran 6. Malondialdehyde	53
Lampiran 7. Hasil Uji Statistika Kadar MDA (Malondealdehyde) Minyak Goreng yang Terkontaminasi Plastik.....	55



DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG

HE	: <i>Hematoxyline Eosin</i>
kg	: Kilogram
MDA	: Malondialdehyde
mL	: Mililiter
Na-Thio	: <i>sodium thiobarbituric acid</i>
PE	: <i>Polyethylene</i>
PBS	: <i>Phosphat Buffer Saline</i>
PFA	: <i>Paraformaldehyde</i>
RAL	: Rancangan Acak Lengkap
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
TBA	: <i>thiobarbituric acid</i>
TCA	: <i>tri chloro acetic</i>
PET	: <i>polyethylene terephthalate</i>
HDPE	: <i>high density polyethylene</i>
LDPE	: <i>low density polyethylene</i>
PVC	: <i>polyvinyl chloide</i>
FATP	: <i>fatty acid transport protein</i>
HNE	: <i>4-hidroksinoneal</i>
PUFA	: <i>polyunsaturated fatty acids</i>
TBARS-test	: <i>Thiobarbituric acid reactive substances</i>
BADGE	: <i>bisphenol A diglisidil eter</i>



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Penelitian

Makanan adalah hal yang dibutuhkan makhluk hidup seperti manusia dalam mencukupi kebutuhan energi untuk dapat hidup. Seiring berkembangnya zaman, jenis dari makanan itu sendiri semakin banyak, mulai dari makanan yang digoreng menggunakan minyak, makanan cepat saji, makanan tahan lama yang menggunakan pengawet didalamnya, serta jajanan yang biasa dijual di daerah pasaran atau tempat pembelajaran. Jajanan pasar sendiri jenis yang banyak dijual merupakan tipe jajanan gorengan, dimana jajanan tersebut digoreng menggunakan minyak goreng. Menurut Cahandar dan Suhanda (2006), jajanan (*street food*) sudah menjadi bagian yang tak terpisahkan dari kehidupan masyarakat baik masyarakat di perkotaan maupun di pedesaan. Konsumsi jajanan masyarakat diperkirakan terus mengalami peningkatan karena terbatasnya waktu anggota keluarga untuk mengolah makanan sendiri. Keunggulan jajanan sendiri diantaranya adalah mudah didapat, harga relatif murah, serta rasa yang enak dan cocok dengan selera kebanyakan masyarakat. Biasanya para penjual jajanan pasar menggunakan bahan pengawet makanan hingga bahan pengawet yang tidak semestinya agar jajanan yang mereka pasarkan terlihat lebih menarik untuk dibeli.

Secara kasat mata, minyak goreng yang tercampur dengan plastik sulit terlihat atau dikenali. Belum terdapat metode yang pasti untuk digunakan dalam menguji minyak goreng tersebut membuat minyak goreng yang dicampur plastik ini sulit untuk dideteksi. Hal ini menyebabkan konsumen atau masyarakat tidak mengetahui mana gorengan yang aman dan gorengan yang pada minyaknya sudah tercampuri dengan plastik (Azizi, 2014).

Menurut Ketaren (2008) dalam Azizi (2014), minyak merupakan zat makanan yang penting untuk tubuh manusia karena minyak merupakan salah satu sumber energi yang efektif dibandingkan karbohidrat maupun protein. 1 gram minyak dapat menghasilkan 9 kkal, sedangkan 1 gram karbohidrat dan protein hanya menghasilkan 4 kkal. Menurut Sutiah dkk. (2008) dalam Azizi (2014), Minyak terdapat pada hampir pada semua bahan pangan dengan kandungan yang berbeda, namun minyak ditambahkan secara sengaja ke dalam bahan makanan dengan berbagai tujuan. Pada proses pengolahan makanan, minyak seringkali digunakan untuk media penghantar panas, seperti contohnya adalah minyak goreng, mentega dan margarin.

Harian KOMPAS.com (2012) mengatakan bahwa Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) kantong plastik kresek, terutama yang berwarna hitam tidak layak digunakan mengemas makanan siap santap, namun seringkali pedagang kaki lima menggunakannya untuk membungkus makanan seperti bakso, mie, atau gorengan. Berdasarkan SK Kepala Badan POM tentang Bahan Kemasan Pangan No.HK.00.05.55.6497, plastik pembungkus bahan makanan dibedakan menjadi 7 jenis dan penggunaannya harus disesuaikan dengan bahan pangan yang akan dikemas. Ada 7 jenis plastik yang diizinkan sebagai kemasan bahan pangan yaitu *polyethylene terephthalate (PET)*, *high density polyethylene (HDPE)*, *polyvinyl chloide (PVC)*, *low density polyethylene (LDPE)*, polipropilen, polistiren.

Jajanan pasar gorengan banyak dilaporkan dan ditemukan banyak yang menggunakan campuran plastik, khususnya di Indonesia. Hal ini jelas sangat berbahaya, karena plastik yang dipanaskan dengan minyak goreng dapat terurai dan hal ini jelas beracun jika dikonsumsi. Tujuan dicampurkannya plastik dengan makanan yang digoreng dengan minyak ini salah satunya agar gorengan tampak lebih mengkilap dan menarik jika dilihat oleh konsumen. Hal yang mendorong pedagang dalam berbuat curang ini tidak lain karena masalah persaingan bisnis.

Menurut Fadillah (2013) dalam Azizi (2014), kurangnya perhatian tentang kualitas minyak goreng yang baik menyebabkan masyarakat menggunakannya secara tidak tepat. Beberapa kasus ditemukan pedagang gorengan yang berbuat curang dengan mencampurkan plastik ke dalam minyak goreng untuk menggoreng dengan tujuan agar gorengan lebih renyah, tahan lama dan gurih. Jika gorengan plastik ini dikonsumsi dalam jangka waktu yang lama, sangat berpotensi menyebabkan kanker karena campuran tersebut mengandung zat karsinogenik. Menurut Sari (2003), makanan jajanan yang sehat, aman, dan bergizi adalah makanan yang halal, mengandung zat gizi yang dibutuhkan tubuh, tersaji dalam keadaan kemasan yang tertutup, tidak mengandung bahan tambahan makanan yang berbahaya dan atau dalam jumlah yang berlebihan serta tidak cepat basi maupun rusak secara fisik. Sehingga banyak menimbulkan efek negatif pada organ pencernaan di dalam tubuh termasuk organ jejunum.

Berdasarkan uraian di atas, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek toksisitas pengaruh pemberian minyak goreng bekas yang terkontaminasi komponen plastik terhadap kadar MDA (Malondialdehyde) dan indikasi adanya inflamasi akut pada histopatologi organ jejunum hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan pemberian volume minyak goreng bekas yang terkontaminasi komponen plastik yang berbeda pada tiap kelompok perlakuan.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah penelitian dimana untuk menguji bahwa minyak goreng yang terpapar senyawa plastik dapat menyebabkan kerusakan sel pada organ pencernaan yaitu jejunum pada tikus (*Rattus norvegicus*), maka dapat dirumuskan permasalahan penelitian sebagai berikut :

1. Apakah pemberian minyak goreng bekas yang terkontaminasi komponen plastik dapat menyebabkan peningkatan kadar MDA pada organ jejunum tikus?

2. Apakah pemberian minyak goreng bekas yang terkontaminasi komponen plastik terdapat perubahan fungsi lapisan sel pada gambaran histopatologi jejunum tikus?

1.3 Batasan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka penelitian ini dibatasi pada :

1. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) dalam penelitian ini menggunakan tikus putih strain Wistar berjenis kelamin jantan dengan umur 8-12 minggu dan berat badan 150-200 gram dan Keterangan Laik Etik dengan Nomor:616-KEP-UB yang didapatkan dari Institut Biosains Universitas Brawijaya.
2. Minyak goreng bekas adalah minyak yang sudah digunakan pemasakan sebanyak 5 kali.
3. Kontaminasi plastik pada minyak goreng adalah penggunaan plastik yang digunakan sebagai campuran untuk memasak dengan tujuan membuat makanan lebih enak.
4. Variabel yang diamati adalah pengukuran kadar MDA organ jejunum secara spektrofotometri dan gambaran histopatologi jejunum diamati dengan mikroskop.
5. Bahan plastik yang digunakan untuk penelitian ini adalah plastik yang memiliki kandungan polyethylene.

1.4 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang telah diuraikan, maka penelitian ini memiliki tujuan yaitu :

1. Mengetahui pengaruh pemberian minyak goreng bekas yang terkontaminasi komponen plastik terhadap kadar MDA pada jejunum tikus putih (*Rattus norvegicus*).
2. Mengetahui pengaruh pemberian minyak goreng bekas yang terkontaminasi komponen plastik terhadap adanya respon inflamasi akut pada gambaran histopatologi jejunum tikus putih (*Rattus norvegicus*).

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat berupa informasi kepada masyarakat mengenai dampak bahaya yang ditimbulkan minyak goreng bekas yang terkontaminasi komponen plastik jika dikonsumsi terhadap saluran pencernaan. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai rujukan untuk pengembangan penelitian terkait masalah pangan khususnya di Indonesia.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Minyak Goreng

Minyak goreng merupakan salah satu kebutuhan yang penting diperlukan oleh masyarakat Indonesia. Minyak goreng sendiri merupakan minyak nabati yang telah melalui proses pemurnian dan dapat digunakan sebagai bahan pangan. Selain memiliki nilai kalori paling besar di antara zat gizi lainnya, minyak juga dapat memberikan rasa gurih, tekstur dan penampakan bahan pangan lebih menarik, serta permukaan yang kering (Dewi dan Hidajati, 2012).

Penggunaan minyak goreng berulang dengan pemanasan pada suhu tinggi akan menghasilkan kadar asam lemak bebas. Kandungan asam lemak bebas yang timbul menandai suatu penurunan mutu atau kerusakan pada minyak itu sendiri. Kerusakan minyak selama proses menggoreng akan mempengaruhi mutu dan nilai gizi dari bahan makanan yang digoreng. Minyak dapat rusak akibat adanya oksidasi dan polimerisasi, sehingga akan menghasilkan bahan dengan rupa yang kurang menarik, cita rasa yang tidak enak, serta kerusakan kandungan vitamin dan asam lemak esensial yang terdapat dalam minyak tersebut (Fauziah, dkk., 2013). Menurut Sutiah dkk. (2008), selama proses penyimpanan, minyak serta lemak mengalami perubahan fisiko-kimia yang dapat disebabkan oleh proses hidrolisis maupun oksidasi. Penyimpanan yang salah dalam jangka waktu tertentu dapat menyebabkan pecahnya ikatan trigliserida pada minyak sehingga terbentuk senyawa gliserol dan asam lemak bebas.

Penggunaan minyak goreng secara kontinyu dan berulang-ulang pada suhu tinggi (160-180°C) disertai adanya kontak dengan udara dan air pada proses penggorengan akan mengakibatkan terjadinya reaksi degradasi yang kompleks dalam minyak dan menghasilkan

berbagai senyawa hasil reaksi. Minyak goreng juga mengalami perubahan warna dari kuning menjadi gelap. Reaksi degradasi ini menurunkan kualitas minyak dan akhirnya minyak tidak dapat dipakai lagi dan harus dibuang. Produk reaksi degradasi yang terdapat dalam minyak ini juga akan menurunkan kualitas bahan pangan yang digoreng dan menimbulkan pengaruh buruk bagi kesehatan (Yustinah, 2011).

Kadar air yang terbentuk dalam minyak merupakan salah satu parameter untuk menentukan tingkat kemurnian minyak dan berhubungan dengan kekuatan daya simpan, sifat goreng, bau, dan rasa. Kadar air sangatlah menentukan kualitas dari minyak yang dihasilkan. Kadar air dalam minyak itu sendiri berperan dalam proses oksidasi maupun hidrolisis minyak, dimana akhirnya dapat menyebabkan bau yang kurang sedap atau tengik. Semakin tingginya kadar air dalam minyak, maka minyak tersebut akan semakin cepat tengik (Mualifah, 2009).

Anwar (2012) mengungkapkan, jumlah asam lemak bebas akan semakin meningkat seiring dengan lamanya proses penggorengan. Asam lemak yang terkandung dalam minyak goreng digunakan sebagai salah satu indikasi kualitas minyak goreng. Reaksi hidrolisis pada minyak akan lebih mudah terjadi pada minyak yang mengandung komponen asam lemak rantai pendek dan tak jenuh dibandingkan asam lemak rantai panjang dan jenuh. Hal tersebut dikarenakan asam lemak rantai pendek tak jenuh akan lebih larut dalam air. Penambahan minyak baru pada proses penggorengan akan memperlambat terjadinya reaksi hidrolisis pada minyak yang digunakan.

Lemak trans dalam bentuk asam elaidat yang dihasilkan dari reaksi peroksidasi lipid pada minyak jelantah juga mempunyai pengaruh terhadap kesehatan seseorang. Sebuah penelitian tentang pengaruh suhu dan lama proses *deep frying* terhadap pembentukan asam lemak trans menunjukkan bahwa setelah proses *deep frying* yang ke-2 akan terbentuk asam lemak trans baru

yang kadarnya akan semakin meningkat sejalan dengan pengulangan penggunaan minyak 18 Asam lemak jenuh dalam bentuk asam palmitat yang terkandung dalam minyak jelantah juga dapat menyebabkan lipotoksisitas. Lipotoksisitas adalah toksisitas sel akibat akumulasi abnormal lemak. Asam lemak bebas bersifat hidrofobik sehingga dapat menembus membran sel atau melalui transporter yaitu *fatty acid transport protein* (FATP) atau *fatty acid transporter* CD36. Asam lemak tersaturasi dapat menginduksi apoptosis (*programmed cell death*). Salah satu dampak berbahaya dari penggunaan minyak jelantah adalah meningkatnya radikal bebas yang terjadi akibat oksidasi pada pemanasan minyak. Radikal bebas dapat yang berlebihan akan menimbulkan stres oksidasi dan dapat menimbulkan penyakit kanker, inflamasi, aterosklerosis, dan mempercepat terjadinya proses penuaan. (Trisnawan, 2015)

Selain karena penggorengan berkali-kali, minyak dapat menjadi rusak karena penyimpanan dalam jangka waktu tertentu karena terjadi proses oksidasi sehingga ikatan trigliserida pecah menjadi gliserol dan asam lemak bebas. (Trisnawan, 2015)

Pada umumnya makanan hasil penggorengan mengandung 4% - 14% lemak dari total beratnya. Penggunaan minyak jelantah akan meningkatkan polaritas minyak dan menurunkan tegangan permukaan antara bahan pangan dan minyak sehingga penyerapan lemak akan semakin meningkat (Trisnawan, 2015).

Reaksi oksidasi antara asam lemak tidak jenuh dengan senyawa oksigen disebut juga dengan reaksi peroksidasi lipid. Reaksi peroksidasi lipid akan menghasilkan hidroperoksida dan endoperoksida. Karena sifatnya yang tidak stabil, endoperoksida kemudian akan segera terdekomposisi dan menghasilkan produk reaksi sekunder. Beberapa contoh hasil reaksi sekunder tersebut adalah MDA, 4-hidroksinoneal (HNE), F2-isoprostan, etana dan pentana, senyawa aldehid. (Trisnawan, 2015)

2.2 Plastik

Plastik merupakan suatu alat yang digunakan untuk mengemas suatu makanan maupun jajanan. Sekarang ini, plastik banyak digunakan untuk mengemas berbagai macam makanan, padahal kandungan senyawa plastik itu dapat bereaksi dengan makanan yang dibungkus tersebut pada kondisi tertentu. Menurut Winarno (1994), bahan kemasan plastik dibuat melalui proses yang disebut polimerisasi. Polimerisasi sendiri merupakan suatu proses yang akan menghasilkan suatu bentuk polimer dari suatu monomer, dimana komponen utama plastik itu sendiri adalah monomer. Selain bahan dasar monomer, plastik juga mengandung bahan aditif yang diperlukan untuk memperbaiki sifat fisiko kimia plastik tersebut, yang disebut komponen non plastik.

Bahan kemasan plastik dibuat dan disusun melalui proses yang disebabkan polimerisasi dengan menggunakan bahan mentah monomer, yang tersusun saling menyambung menjadi satu dalam bentuk polimer. Kemasan plastik memiliki keunggulan yaitu sifatnya yang kuat namun ringan, inert, tidak korosif dan dapat diberi warna. Bahan ini memiliki kelemahan yaitu adanya zat-zat monomer dan molekul kecil lain dalam bahan makanan yang dikemas. Berbagai jenis bahan kemasan kemasan lemas seperti polietilen, polipropilen, nilon poliester dan film vinil dapat digunakan secara tunggal untuk membungkus makanan atau dalam bentuk lapisan dengan bahan lain yang direkatkan bersama (Winarno, 1994).

Plastik sebagai bahan yang dibuat dari proses dan senyawa kimia memiliki sifat fisiko kimia, yaitu:

- a. Plastik *Termoset*, yaitu jenis plastik yang mengalami perubahan bersifat *irreversible*. Pada suhu tinggi, jenis plastik ini berubah menjadi arang. Ini disebabkan karena struktur kimianya yang bersifat 3 dimensi dan cukup kompleks. Pemakaian termoset dalam industri pangan terutama untuk membuat tutup botol. Plastik tidak akan kontak langsung

dengan produk karena tutup selalu diberi lapisan perapat yang sekaligus berfungsi sebagai pelindung (Winarno, 1994).

- b. Plastik *Termoplastik*, plastik jenis ini merupakan jenis polimer yang paling banyak dipakai untuk mengemas atau kontak dengan bahan makanan. Plastik jenis ini dapat menjadi lunak jika dipanaskan dan mengeras setelah dingin. Hal ini dapat terjadi berulang tanpa terjadi perubahan khusus. Termoplastik termasuk turunan etilena ($\text{CH}_2 = \text{CH}_2$) dan bisa dinamakan plastik vinil karena mengandung gugus vinyl ($\text{CH}_2 = \text{CH}$) (Sulchan, 2007).

2.2.1 Plastik Polyethylene

Polyethylen merupakan film yang lunak, transparan dan fleksibel, kuat terhadap benturan, kekuatan sobek yang baik serta akan melunak dan mencair pada suhu 110°C . Berdasar sifat permeabilitasnya yang rendah dan sifat mekanik yang baik, polietilen memiliki ketebalan 0.001 hingga 0.01 inchi, dimana plastik jenis ini banyak digunakan untuk mengemas makanan. Sifatnya thermoplastik, polyethylen mudah dibuat kantung dengan derajat kerapatan yang baik (Sacharow dan Griffin, 1970) dalam Nurminah (2002).

Konversi etilen menjadi polietilen (PE) secara komersial awal mulanya dilakukan dengan tekanan tinggi, namun saat ini sudah ditemukan dengan cara tanpa tekanan tinggi. Reaksi yang terjadi adalah sebagai berikut:



Polyethylen sendiri dibuat dengan proses polimerasi adisi dari gas etilen yang diperoleh dari hasil samping industri minyak dan batubara. Proses polimerisasi itu sendiri dilakukan dengan dua cara, yakni polimerisasi yang dilakukan dalam bejana bertekanan tinggi (1000-3000 atm) sehingga menghasilkan molekul makro dengan banyak percabangan yaitu campuran dari

rantai lurus dan bercabang. Cara yang kedua yaitu polimerisasi dengan bejana bertekanan rendah (10-40 atm) yang menghasilkan molekul makro rantai lurus tersusun secara paralel (Nurminah, 2002).

Dari Pusat Penelitian Kimia (LIPI) mengatakan bahwa setiap hari orang ketergantungan terhadap plastik semakin tinggi, namun bahaya yang timbulkannya kurang di sadari oleh masyarakat. Penggunaan bahan plastik dalam kehidupan sehari - hari tidak perlu dikhawatirkan jika kita tau cara penggunaannya. Plastik yang aman untuk dipakai pada suhu tertentu dan minyak/lemak untuk kemasan makanan adalah plastik yang memenuhi Standar Nasional Indonesia (SNI). Namun, tidak semua produk kemasan plastik memenuhi standar SNI. Maka dari itu kita harus lebih teliti untuk memasukan makanan atau minuman panas kedalam plastik (Nurminah,2002).

Adapun bahaya yang ditimbulkan plastik bagi kesehatan tubuh yaitu menyebabkan kanker, mungkin sebagian besar masyarakat menganggap bahwa plastik merupakan barang biasa yang memberi banyak keuntungan, namun bahayanya jika sampai terurai kedalam tubuh bisa berbahaya bagi kesehatan, bahkan bisa menyebabkan kanker. Manusia yang terhirup dioksin akan berakibat pada gangguan sistem saraf, yang dikarenakan plastik mengalami penguraian sebagai dioksin, bukan cuma sekedar kanker yang ditimbulkan. Sistem saraf pun akan terangsang sehingga menimbulkan kerusakan. Kerusakan sistem saraf ini juga akan berimbas pada kinerja organ dalam lainnya, karena pembakaran plastik yang tidak sempurna. Depresi, berawal dari stres yang sudah parah. Biasanya disebabkan oleh masalah internal maupun eksternal yang kemudian depresi berujung pada gangguan jiwa dan mental. Namun potensi depresi ini juga dapat disebabkan oleh paparan senyawa dari plastik saat proses pembakaran yang tidak sempurna (Nurminah, 2002).

Kemasan plastik yang dipakai untuk membungkus makanan atau minuman panas juga dapat menimbulkan pembekakan hati, karena plastik yang sifatnya bisa didaur ulang. Gangguan reproduksi ini disebabkan adanya bahan kimia tambahan yang beragam. Ini disebabkan karena terdapat bahan kimia tambahan yang beragam ada di dalam kantong plastik. Sisa monomer yang tidak bereaksi terhadap plastik pun juga menyebabkan gangguan kesehatan satu ini. Maka dari itu baik wanita maupun pria sebaiknya berhati-hati dan selalu menggunakan kantong plastik dengan benar. Radang paru – paru, zat karsinogenik yang keluar dari penggunaan botol atau plastik saat terkena paparan panas akan menyebabkan peradangan pada paru – paru.

Kode plastik dan contoh penggunaannya jenis plastik PET, PETE (*Polyethylene terephthalate*) bersifat jernih dan transparan, kuat, tahan pelarut, kedap gas dan air, melunak pada suhu 80°C. biasanya digunakan untuk botol minuman, minyak goreng, kecap, sambal, obat. tidak untuk air hangat apalagi panas. untuk jenis ini, disarankan hanya untuk satu kali penggunaan dan tidak untuk mewadahi pangan dengan suhu >60°C. HDPE (*High Density Polyethylene*) bersifat keras hingga semifleksibel, tahan terhadap bahan kimia dan kelembaban, dapat ditembus gas, permukaan berkilau, buram, mudah diwarnai, diproses dan dibentuk, melunak pada suhu 75°C. biasanya digunakan untuk botol susu cair, jus, minuman, wadah es krim, kantong belanja, obat, tutup plastik. disarankan hanya untuk satu kali penggunaan karena jika digunakan berulang kali dikhawatirkan bahan penyusunnya lebih mudah bermigrasi ke dalam pangan. PVC (*Polyvinyl chloride*) plastik ini sulit didaur ulang, bersifat lebih tahan terhadap senyawa kimia. Biasanya digunakan untuk botol kecap, botol sambal, baki, plastik pembungkus. Plastik jenis ini sebaiknya tidak untuk mewadahi pangan yang mengandung lemak/minyak, alkohol dan dalam kondisi panas. LDPE (*Low Density Polyethylene*) bahan mudah diproses, kuat, fleksibel, kedap air, tidak jernih tetapi tembus cahaya, melunak pada suhu 70°C. Biasanya

digunakan untuk botol madu, wadah yogurt, kantong kresek, plastik tipis. Plastik ini sebaiknya tidak digunakan kontak langsung dengan pangan. PP (*Polypropylene*) ciri-ciri plastik jenis ini biasanya transparan tetapi tidak jernih atau berawan, keras tetapi fleksibel, kuat, permukaan berkilin, tahan terhadap bahan kimia, panas dan minyak, melunak pada suhu 140°C. Merupakan pilihan bahan plastik yang baik untuk kemasan pangan, tempat obat, botol susu, sedotan. PS (*Polystyrene*) terdapat dua macam PS, yaitu yang kaku dan lunak/berbentuk foam. PS yang kaku biasanya jernih seperti kaca, kaku, getas, mudah terpengaruh lemak dan pelarut (seperti alkohol), mudah dibentuk, melunak pada suhu 95°C. Contoh : wadah plastik bening berbentuk kotak untuk wadah makanan. PS yang lunak berbentuk seperti busa, biasanya berwarna putih, lunak, getas, mudah terpengaruh lemak dan pelarut lain (seperti alkohol). Bahan ini dapat melepaskan styrene jika kontak dengan pangan. Contohnya yang sudah sangat terkenal styrofoam. Biasanya digunakan sebagai wadah makanan atau minuman sekali pakai, wadah CD, karton wadah telur, dll. Kemasan styrofoam sebaiknya tidak digunakan dalam microwave. Kemasan styrofoam yang rusak/berubah bentuk sebaiknya tidak digunakan untuk wadah makanan berlemak/berminyak terutama dalam keadaan panas. Other termasuk Polycarbonat, bio-based plastic, co-polyester. Bersifat keras, jernih dan secara termal sangat stabil. Bahan Polycarbonat dapat melepaskan Bisphenol-A (BPA) ke dalam pangan, yang dapat merusak sistem hormon. Biasanya digunakan untuk galon air acrylic, polyamide, dan campuran plastik) minum, botol susu, peralatan makan bayi. Untuk mensterilkan botol susu, sebaiknya direndam saja dalam air mendidih dan tidak direbus. Botol yang sudah retak sebaiknya tidak digunakan lagi. Pilih galon air minum yang jernih, dan hindari yang berwarna tua atau hijau. - Melamin Termasuk dalam golongan plastik termoset atau plastik yang tidak dapat didaur ulang. Bersifat keras, kuat, mudah diwarnai, bebas rasa dan bau, tahan terhadap pelarut dan noda, kurang tahan terhadap asam dan alkali. Terbuat

dari resin (bahan pembuat plastik) dan formaldehid atau formalin. Kandungan formalin pada melamin dapat bermigrasi ke dalam pangan, terutama jika produk pangan dalam keadaan panas, asam dan mengandung minyak. Biasanya digunakan sebagai peralatan makan, misalnya piring, cangkir, sendok, garpu, sendok nasi, dll. Melamin yang tidak memenuhi syarat sebaiknya tidak digunakan untuk mawadahi pangan yang berair, mengandung asam, terlebih dalam kondisi panas (BPOM RI, 2008).



Gambar 2.1. Kode dalam kemasan plastik
(Sumber : BPOM RI, 2008)

2.3 Jejunum

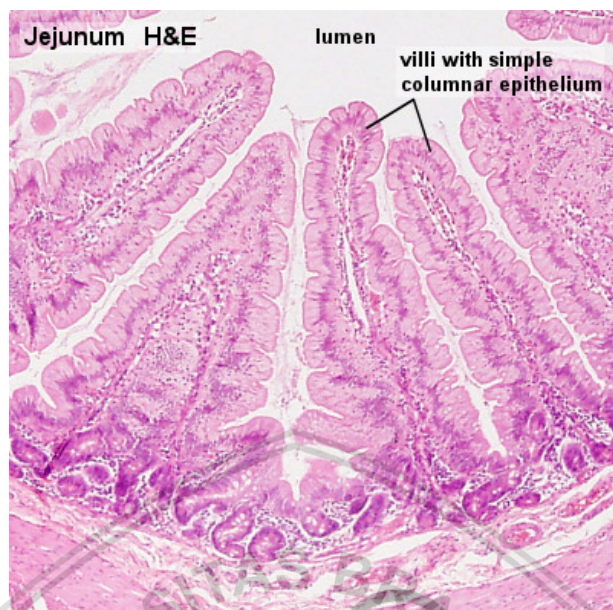
Jejunum adalah bagian tengah dari tiga bagian dari usus halus. Transisi dari bagian ekstrasplinteritoneum asenden dari duodenum ke jejunum intraperitoneum terjadi pada lentur duodenojejunal. Transisi ke ileum tidak tajam ditandai dan hanya terlihat secara mikroskopis (Murti, 2003).

Jejunum membentuk sekitar 2/5 dari total panjang usus halus (1,5-3,5 meter). Secara makroskopik terlihat dengan banyak lipatan melingkar paralel berjalan pada mukosa. Seperti semua organ intraperitoneal baik jejunum dan ileum yang melekat pada dinding posterior

abdomen oleh mesenterium. Ini berarti seluruh belitan dari usus kecil terletak cukup fleksibel dalam rongga perut namun “dibingkai” oleh usus besar (Murti, 2003).

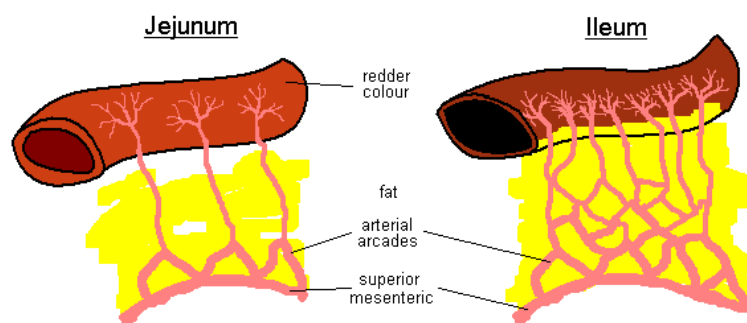
Jejunum memiliki pola histologis khas seperti seluruh usus halus: mukosa, submukosa, muskularis dan serosa. Mukosa dilapisi oleh epitel kolumnar sederhana menuju lumen (lamina epithelialis). Ini berisi enterosit dan sel goblet. Fitur karakteristik yang diabadikan dari Lieberkuhn dan vili yang menonjol dalam lumen usus. Serupa dengan sel Paneth duodenum yang ditemukan jauh di dalam kriptus. Lapisan epitel diikuti oleh lapisan jaringan ikat (lamina propria) dan lapisan otot (lamina muskularis mukosa). Submukosa terdiri dari jaringan ikat longgar dengan pembuluh darah, kelenjar getah bening dan pleksus Meissner. Histologi jejunum membedakan dari usus halus lainnya dengan tidak adanya kelenjar Brunner (duodenum) dan bintik-bintik Peyer (ileum) folikel limfoid namun salah satu yang hadir (Murti, 2003).

Tugas utama jejunum adalah pemecahan nutrisi (misalnya dengan amilase, proteinase), penyerapan nutrisi lipofilik (protein, lemak, kolesterol dan vitamin yang larut dalam lemak A, D, E dan K), penyerapan air (sekitar 90% dari air yang dikeluarkan, 6 sampai 8 liter / hari). Ini menginduksi gradien osmotik yang mengarah ke transportasi paraseluler elektrolit, karbohidrat dan asam amino (Murti, 2003).



Gambar 2.2 Histologi Normal Jejunum Tikus
(Sumber: Slomianka, 2009)

Jejunum adalah bagian berikutnya dari usus kecil, dan memiliki lapisan yang khusus dalam penyerapan karbohidrat dan protein. Protein yang telah dipecah di perut oleh enzim yang disebut pepsin dan asam menjadi asam amino. Karbohidrat dipecah dalam duodenum oleh enzim dari pankreas dan hati menjadi gula. Lemak dipecah dalam duodenum oleh “lipase” dari pankreas menjadi asam lemak. Asam amino, gula, partikel asam lemak, vitamin, mineral, elektrolit dan air cukup kecil untuk meresap ke dalam vili dari jejunum dan turun ke dalam aliran darah. Darah mengambil semua nutrisi ke seluruh bagian tubuh lainnya untuk menyediakan bahan bakar untuk melakukan pekerjaan mereka. Jejunum menyerap nutrisi seperti karbohidrat. Itu adalah bagian dari usus kecil di mana penyerapan maksimum mineral makanan yang dicerna dan air berlangsung ke dalam darah. Hal ini juga bertindak sebagai jalur untuk makanan dicerna untuk lolos ke usus besar untuk penyerapan air lebih lanjut (Murti, 2003).



Gambar 2.3 organ jejunum dan organ ileum
(Sumber: Sridianti, 2016)

2.4 Malondialdehida (MDA)

Malondialdehida (MDA) merupakan bentuk respon seluler tubuh terhadap masuknya bakteri karena aktivasi sel-sel fagosit yang berinteraksi dengan limfosit untuk memberi perlawanan di tempat invasi. Sel-sel fagosit membentuk dan membebaskan radikal oksigen toksik untuk membunuh patogen yang masuk, proses ini dikenal dengan *respiratory burst*. Makrofag yang teraktivasi akan meningkatkan kemampuan *killing*-nya terhadap bakteri. *Killing* tersebut terkait dengan proses fagositosis. Setelah dipacu oleh infeksi awal yang luar biasa dan berkepanjangan, neutrofil dan makrofag memproduksi dan merespon sitokin, kemokin, serta produk-produk akibat aktivasi komplemen dan mediator lainnya. Lingkungan proinflamasi seperti ini akan menyebabkan pelepasan mediator sekunder yang kuat seperti faktor lipid dan *reactive oxygen species* (ROS) yang selanjutnya akan meningkatkan proses inflamasi (Guntur, 2008 dan Rittirsch *et al*, 2008).

Reactive Oxygen Species (ROS) merupakan metabolit utama yang dihasilkan melalui reduksi satu elektron dari hasil metabolisme normal. ROS dapat menimbulkan stres oksidatif apabila ROS yang dihasilkan lebih besar dibanding dengan mekanisme pertahanan sel. Stres oksidatif tersebut berpotensi menyebabkan kerusakan seluruh membran biologis dengan cara

menyerang protein, lipid, asam nukleat, dan gliko-konjugat sehingga menyebabkan peroksidasi lipid (Arkhaesi, 2008).

Peroksidasi lipid adalah suatu reaksi rantai radikal bebas yang diawali dengan terbebasnya hidrogen dari suatu asam lemak tak jenuh berantai panjang (*polyunsaturated fatty acids* atau PUFA) oleh radikal bebas. Konsekuensi penting dari peroksidasi lipid adalah meningkatnya permeabilitas membran dan mengganggu distribusi ion-ion yang mengakibatkan kerusakan fungsi sel dan organel (Devlin, 2002). Menurut Siswonoto (2008), produk peroksidasi lipid diinduksi oleh oksidan dan stress oksidatif menghasilkan produk malondialdehid (MDA). MDA tergolong senyawa aldehid yang sangat reaktif dan dapat bersifat toksik serta bersifat mutagenik bagi sel karena dapat memodifikasi struktur DNA serta dikenal sebagai penanda (marker) peroksidasi lipid (Niedernhofer *et al*, 2003).

Power dan Jackson (2008) menyebutkan bahwa pengukuran tingkat peroksidasi lipid diukur dengan mengukur produk akhirnya, yaitu malondialdehid (MDA), yang merupakan produk oksidasi asam lemak tidak jenuh dan yang bersifat toksik terhadap sel. Pengukuran kadar MDA merupakan pengukuran aktivitas radikal bebas secara tidak langsung sebagai indikator stres oksidatif. Pengukuran ini dilakukan dengan tes *Thiobarbituric Acid Reactive Substances* (TBARS test). Menurut Mardiani (2008), pengukuran kadar MDA dilakukan dengan dasar reaksi MDA dengan asam tiobarbiturat (TBA) yang membentuk senyawa berwarna MDA-TBA₂ dan mengabsorpsi sinar dengan panjang gelombang 532-534 nm. Senyawa berwarna tersebut dapat diukur konsentrasinya berdasarkan absorbansi warna yang terbentuk, dengan membandingkannya pada absorbansi warna larutan standar yang telah diketahui konsentrasinya menggunakan spektrofotometer.

2.5 Tikus Putih

Tikus putih yang memiliki nama ilmiah *Rattus norvegicus* adalah hewan coba yang sering dipakai untuk penelitian. Hewan ini termasuk hewan nokturnal (aktif di malam hari) dan sosial. Salah satu faktor yang mendukung kelangsungan hidup tikus putih dengan baik ditinjau dari segi lingkungan adalah temperatur dan kelembaban. Temperatur yang baik untuk tikus putih yaitu 19°C – 23°C, dengan kelembaban 40-70 % (Wolfenshon dan Lloyd, 2013).

Adapun taksonomi tikus menurut Besselsen (2004) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Sub-filum	: Vertebrata
Kelas	: Mammalia
Sub-kelas	: Theria
Ordo	: Rodensia
Sub-ordo	: Scuirognathi
Famili	: Muridae
Sub Famili	: Murinae
Genus	: <i>Rattus</i>
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>



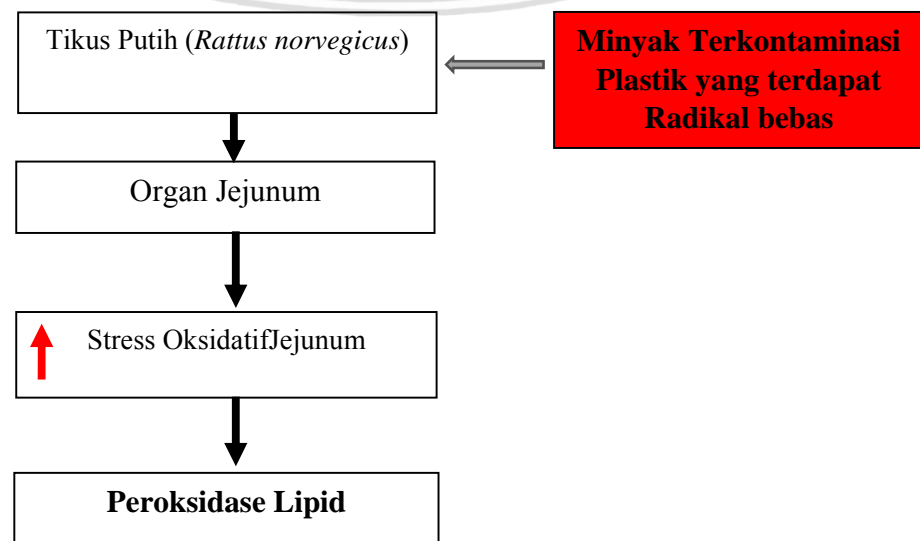
Gambar 2.4 Tikus putih (*Rattus norvegicus*)

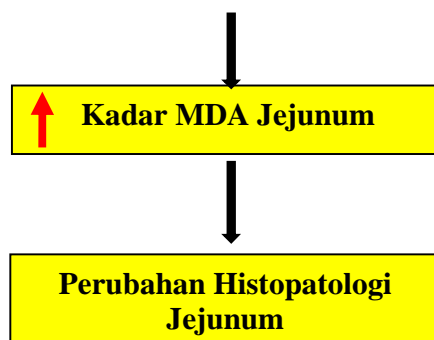
(Sumber: Potter, 2007)

Selain tikus galur wistar, jenis tikus yang dipakai sebagai uji toksisitas dan keamanan obat adalah jenis tikus swiss-webster. Tikus galur swiss-webster mempunyai karakter transgenik yang bagus pada jenis betinanya, sehingga mudah untuk dikembangkan atau sebagai transfer genetik baru. Warna tubuh putih dan warna mata merah Mempunyai ukuran tubuh sekitar 7,5 – 10 cm dan panjang ekor 5 – 10 cm (Zivkovic *et al.*, 2016).

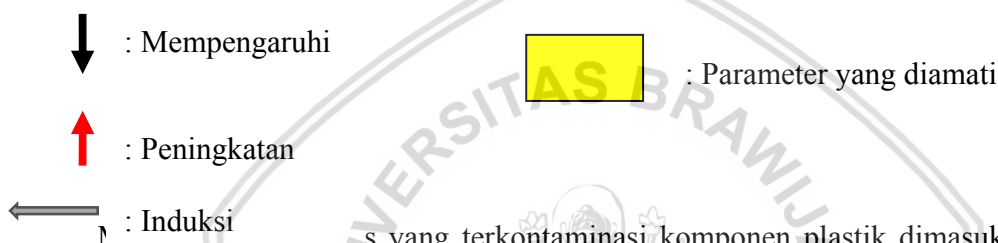
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual





Keterangan:



Gambar 3.1 Kerangka konsep s yang terkontaminasi komponen plastik dimasukkan ke dalam tikus putih (*Rattus novergicus*) melalui per oral menuju organ pencernaan jejunum. Pemberian minyak goreng bekas yang terkontaminasi komponen plastik mengandung banyak senyawa radikal bebas dalam organ tersebut. Terjadi adanya akumulasi radikal bebas pada organ jejunum mengakibatkan adanya gangguan terhadap membran sel.

Radikal bebas dapat merusak sel epitel dengan cara merusak membran sel tersebut. Kerusakan pada sel epitel ini dapat terjadi dengan cara radikal bebas yang berikatan secara kovalen dengan elektron yang ada di sel epitel dan/atau reseptor yang berada di membran sel epitel tersebut, sehingga mengakibatkan perubahan fungsi dan struktur membran sel epitel dan/atau merubah karakter membran menjadi seperti antigen, radikal bebas mengganggu sistem transport membran sel epitel melalui ikatan kovalen, mengoksidasi kelompok thiol, atau dengan merubah asam lemak tidak jenuh, radikal bebas menginisiasi peroksidasi lipid secara langsung terhadap asam lemak tidak jenuh.

Meningkatnya stress oksidatif pada organ jejunum diakibatkan adanya ketidakseimbangan radikal bebas dan ROS. Stress oksidatif dapat disebabkan oleh kekurangan antioksidan dalam makanan atau akibat meningkatnya radikal bebas dan ROS disebabkan oleh toksin dari makanan atau lingkungan.

Mekanisme kerusakan sel atau jaringan akibat serangan radikal bebas yang paling awal diketahui dan terbanyak diteliti adalah peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid paling banyak terjadi di membran sel, terutama asam lemak tidak jenuh yang merupakan komponen penting penyusun membran sel.

Pengukuran tingkat peroksidasi lipid diukur dengan mengukur produk akhirnya, yaitu malondialdehyde(MDA), yang merupakan produk oksidasi asam lemak tidak jenuh dan yang bersifat toksik terhadap sel. Pengukuran kadar MDA merupakan pengukuran aktivitas radikal bebas secara tidak langsung sebagai indikator stres oksidatif.

Pembuatan preparat histopatologi organ jejunum untuk melihat perubahan struktur jaringan pada organ tersebut dan mampu membedakan dengan jaringan sel yang normal dan yang sudah terpapar toksisitas dari minyak goreng bekas yang terkontaminasi komponen plastik.

3.2 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah diatas, maka hipotesis yang dapat diajukan adalah sebagai berikut :

- 1) Pemberian campuran minyak goreng dan plastik dapat menaikkan kadar malondialdehida (MDA) organ jejunum tikus (*Rattus norvegicus*).
- 2) Pemberian campuran minyak goreng dan plastik dapat merusak gambaran histopatologi organ jejunum tikus (*Rattus norvegicus*).



BAB 4. METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik Universitas Muhammadiyah Malang. Pembuatan preparat histopatologi dan penghitungan kadar MDA dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang dan Laboratorium Biokimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya. Penelitian ini dimulai mulai bulan Juli hingga Agustus 2016 dan sudah mendapatkanketerangan laik etik dengan Nomor:616-KEP-UB yang didapatkan dari Institut Biosains, Universitas Brawijaya.

4.2 Sampel

Hewan coba yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain *Wistar* berjenis kelamin jantan, umur 8-10 minggu dengan berat badan 150-200 gram dalam kondisi sehat, bergerak aktif serta tanpa cacat fisik, sebanyak 20 ekor.

4.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), dimana akan dibagi 4 kelompok eksperimen secara acak, dan tiap kelompok terdiri dari 5 hewan coba. Rancangan penelitian ditunjukkan pada tabel 4.1 berikut.



Tabel 4.1 Rancangan Kelompok Penelitian

Kelompok	Perlakuan
P1	kontrol negatif, tanpa perlakuan
P2	campuran minyak goreng dan plastik 0,5mL/ekor/hari
P3	campuran minyak goreng dan plastik 1mL/ekor/hari
P4	campuran minyak goreng dan plastik 1,5mL/ekor/hari

4.4 Perhitungan Statistika

Estimasi besaran sampel dihitung berdasarkan rumus sebagai berikut (Kusriningrum, 2008)

:

$$P(n-1) \geq 15$$

$$4(n-1) \geq 15$$

$$4n-4 \geq 4$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 5$$

4.5 Variabel Penelitian

Adapun variabel didalam penelitian adalah:

Variabel Bebas : jumlah pemberian minyak goreng bekas yang terkontaminasi komponen plastik pada kelompok perlakuan positif.

Variabel Terikat : Gambaran histologi dan histopatologi jejunum dan pengukuran kadar MDA.

Variabel Kontrol : Jenis kelamin, umur, berat badan, pakan, serta konsisi lingkungan.

4.6 Alat dan Bahan

4.6.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian kali ini diantaranya adalah: kandang pemeliharaan beserta serutan kayu sebagai alasnya, tempat minum dan pakan tikus putih, sonde khusus tikus, timbangan, spuit 3cc, kontainer organ, lemari pendingin, gelas ukur, tabung reaksi, *object glass*, *cover glass*, *dissecting set*(peralatan bedah), papan bedah, sarung tangan (*glove*), mikroskop cahaya, kamera, serta peralatan tulis.

4.6.2 Bahan

Microtube, *micropipet*, *tabung reaksi*, *water bath*, *spectrophotometer*, *organ jejunum*, *aquades*, *thiobarbituric acid (TBA)*, *larutan sodium thiobarbituric acid (Na-Thio) 1%*, *tri chloro acetic (TCA) 100%*, dan *HCl 1N*.

4.7 Karakteristik Sampel Penelitian

4.7.2 Kriteria Inklusi

- Tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar berumur 8-10 minggu.
- Berat badan 150-200 gram.
- Jenis kelamin jantan
- Sehat, ditandai dengan gerakan yang aktif, tidak ada kecacatan secara fisik dan mata tampak jernih.

4.7.3 Kriteria Eksklusi

- Tikus putih yang mati dalam proses penelitian atau mengalami sakit.

4.8 Prosedur Penelitian

4.8.1 Aklimatisasi

Aklimatisasi hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar yang berumur 8-10 minggu dengan berat antara 150-200 gram selama satu minggu untuk adaptasi di tempat pemeliharaan dalam menyeragamkan cara hidup dan makanannya sebelum dilakukan percobaan. Lingkungan kandang dibuat agar tidak lembab, suhu kandang dijaga sekitar 25°C, serta ada pertukaran gelap dan terang setiap 12 jam. Masing-masing tikus diletakkan dalam kandang tersendiri dan dijaga sedemikian rupa sehingga tidak saling berinteraksi. Kesehatan tikus dipantau setiap hari sampai tikus diterminasi.

4.8.2 Pakan Tikus

Bahan baku pakan yang dipakai untuk pakan hewan coba laboratorium menggunakan pakan jenis BR-1 dan dedak jagung dengan komposisi sebagai berikut :

Kadar protein	: 12%
Lemak kasar	: 21%
Serat kasar	: 5%
Kalsium	: 0,9% – 1,2%
Fosfor	: 0,7% - 0,9%

Pakan yang diberikan dalam bentuk bola dengan pemberian sebanyak 10% dari berat badan hewan coba. Sebanyak 1x sehari dengan pemberian air minum dilakukan secara ad libitum.

4.8.3 Induksi campuran Minyak dan Plastik pada Hewan Coba

Minyak goreng dipanaskan sampai mendidih kemudian dimasukkan plastik polietilen ukuran 110 gram (20 x 30 cm) untuk minyak goreng sejumlah 200 mL, selama ± 5 menit lalu didinginkan. Minyak bekas gorengan plastik yang telah didinginkan pada suhu ruang diberikan secara sonde lambung dan masuk dalam tubuh tikus.

4.8.4 Euthanasia Hewan Coba

Euthanasia hewan coba dilakukan dengan cara melakukan dislokasi pada bagian leher tikus, kemudian dilakukan pembedahan dan pengambilan organ Jejunum.

4.8.5 Pembuatan Preparat Histopatologi Jejunum

Organ jejunum yang sudah difiksasi dalam *Paraformaldehyde* (PFA) 4% kemudian melalui tahap berikut ini.

- a. *Dehidrasi*, yaitu untuk mengeluarkan air dari jaringan agar jaringan tersebut dapat diisi parafin sehingga jaringan dapat diiris tipis. Jejunum dimasukkan dalam alkohol 70%, 80%, 90%, 95%, 100% masing-masing selama 2 jam.
- b. *Clearing*, untuk membuat jaringan jejunum jernih dan transparan, dimasukkan dalam xylol I selama 1 jam, xylol II selama 30 menit, dan xylol III selama 30 menit.
- c. *Embedding*, yaitu proses memasukkan jaringan jejunum ke dalam parafin cair untuk dibuat blok yang padat. Jaringan dimasukkan dalam parafin yang ditempatkan dalam inkubator bersuhu 58-60⁰C.
- d. *Sectioning*, yaitu proses pemotongan jaringan jejunum dengan *microtome*. Jejunum dalam blok parafin dipotong dengan ketebalan 4-6 μ m agar tembus cahaya saat diperiksa dengan mikroskop. Kemudian direndam dalam *water bath* untuk menghilangkan kerutan halus pada preparat dengan suhu 40⁰C, dikeringkan pada suhu 26-27⁰C.
- e. *Mounting*, yaitu proses penempelan jaringan ke *object glass*. Jaringan jejunum ditempelkan pada *object glass*, lalu dikeringkan di atas *hot plate* 38-40⁰C sampai

kering kemudian disimpan pada inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam, lalu preparat jejunum siap melalui tahap pewarnaan (Wati dkk., 2013).

4.8.6 Pengukuran Kadar MDA

Pengukuran kadar MDA dilakukan dengan cara sampel yang sudah disentrifugasi kemudian diambil 100 µl dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambah 1450 µl aquades dan 100 µl TCA 100% kemudian divortex, kemudian ditambah 250 µl HCl 1N kemudian dihomogenkan dengan vortex, ditambahkan 100 µl Na-Thio 1% kemudian divortex. Mulut tabung ditutup dengan plastik *wrap* dan diinkubasi pada suhu 100°C selama 10 menit, kemudian setelah dipanaskan dilakukan sentrifugasi 3500 rpm selama 10 menit, kemudian diambil supernatan dan diletakkan pada tabung *appendorf* yang baru, kemudian diukur absorbansinya dengan spektrofotometer *shimadzu UV-visible spectrophotometer UV-1601* pada panjang gelombang 532 nm.

4.8.7 Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (HE)

Pewarnaan preparat dengan *Hematoxylin Eosin* (HE) untuk mewarnai jaringan. Zat warna *Hematoxylin* untuk memberi warna biru pada inti sel dan *Eosin* untuk memberi warna merah muda pada sitoplasma sel. Berikut tahapan pewarnaan yang dilakukan:

- a. *Deparafinisasi*, yaitu untuk menghilangkan dan melarutkan parafin yang terdapat pada jaringan. Preparat dimasukkan dalam xylol I dan II masing-masing selama 5 menit.
- b. *Rehidrasi*, yaitu untuk memasukkan air ke dalam jaringan. Air akan mengisi rongga-rongga jaringan yang kosong. Preparat dimasukkan dalam alkohol 100%, 90%, 80% masing-masing selama 5 menit kemudian dicuci dengan air mengalir selama 1 menit.

- c. Pewarnaan I, untuk memberi warna biru pada inti dan sitoplasma jaringan. Preparat dimasukkan dalam *Hematoxylin* selama 5 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir selama 1 menit.
- d. *Differensiasi*, untuk mengurangi warna biru yang pekat pada inti sel dan menghilangkan warna biru pada sitoplasma. Preparat dimasukkan dalam *Hydrochloric acid* (HCl) 0,6% selama 1 menit. Kemudian dicuci dengan air mengalir selama 1 menit.
- e. *Blueing*, untuk memperjelas warna biru pada inti sel. Preparat dimasukkan dalam *Lithium carbonat* 0,5% selama 3 menit. Kemudian dicuci dengan air mengalir selama 1 menit.
- f. Pewarnaan II, untuk memberi warna merah muda pada sitoplasma. Preparat dimasukkan dalam *eosin* selama 3 menit.
- g. *Dehidrasi*, untuk menghilangkan air dari jaringan. Preparat dimasukkan dalam alkohol 80%, 90%, 100% masing-masing selama 5 menit.
- h. *Clearing*, untuk membuat jaringan menjadi jernih dan transparan. Preparat dimasukkan dalam xylol I dan II selama 1 menit. Tunggu sampai kering.
- i. *Mounting*, untuk mengawetkan jaringan yang telah diwarnai. Preparat diberi *Entellan/canada balsam* dan ditutup dengan *cover glass* (Jusuf, 2009).

4.9 Analisa data

Analisis kadar MDA menggunakan uji *one way* ANOVA dan dilanjutkan dengan uji Tukey tingkat kepercayaan 95% menggunakan SPSS 23.0 For Windows, analisis gambaran histopatologi dilakukan secara deskriptif.

BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Uji Toksisitas Campuran Minyak Goreng dan Plastik terhadap Kadar MDA (Malondialdehyde) pada Organ Jejunum Tikus Putih (*Rattus novvergicus*)

Penelitian ini mengamati histopatologi dan kadar MDA pada organ jejunum tikus putih yang diinduksi dengan minyak bekas penggorengan yang telah terkontaminasi komponen plastik. Identifikasi gambaran histopatologi preparat lambung menggunakan pewarnaan *hematoxylin-eosin* (HE) untuk mengetahui gambaran kerusakan yang terjadi pada histologi jejunum tikus putih melalui hasil pewarnaan yang terbentuk.

Malondialdehida (MDA) merupakan produk akhir dari peroksidasi lipid yang terbentuk akibat degradasi radikal bebas terhadap asam lemak tak jenuh (Yunus, 2001). Minyak goreng bekas terkontaminasi komponen plastik dalam lambung akan menyebabkan reaksi stress oksidatif pada jaringan lambung karena molekul radikal bebas yang mengkontaminasi minyak goreng. Molekul radikal bebas yang kekurangan elektron atau memiliki elektron tidak berpasangan akan merusak membran lipid sel-sel jaringan jejunum dengan cara mengambil elektron pada membran sel sehat, sehingga akan mengganggu keseimbangan permeabilitas membran sel dan mengakibatkan adanya kerusakan jaringan.

Tabel 5.1 Perhitungan Kadar MDA

Kelompok	Jumlah Rata-rata Kadar MDA ($\mu\text{g/mL}$)	Peningkatan Kadar MDA (%)
----------	-------------------------------------------------	---------------------------

P1	$0,398 \pm 0,968^b$	-
P2	$0,722 \pm 0,795^a$	81,40
P3	$0,690 \pm 0,733^a$	73,36
P4	$0,790 \pm 0,692^a$	98,49

Keterangan: Notasi a dan b menunjukkan adanya perbedaan anta^r kelompok perlakuan ($p < 0,05$).

Kadar MDA pada kelompok tikus sehat merupakan kadar MDA yang dapat direspon tikus normal, oleh karena itu digunakan sebagai pembanding untuk menentukan adanya penurunan atau peningkatan yang terjadi pada perlakuan. Peningkatan MDA dapat digunakan sebagai indikator kerusakan jaringan (Mudassir, 2012).

Kadar MDA pada **Tabel 5.1**, kelompok P1 mempunyai nilai yang paling rendah dibandingkan kelompok P2, kelompok P3 dan kelompok P4. Nilai MDA pada tikus kelompok P1 digunakan sebagai standar untuk menentukan adanya peningkatan atau penurunan yang terjadi karena pengaruh perlakuan. Kelompok P2 menunjukkan nilai kadar MDA sebesar $0,722 \pm 0,795^a \mu\text{g/mL}$ atau mengalami peningkatan sebesar 81,40%. Untuk kelompok P3 menunjukkan nilai kadar MDA sebesar $0,690 \pm 0,733^a \mu\text{g/mL}$ atau mengalami penurunan sebesar 73,36%. Kelompok P4 menunjukkan nilai kadar MDA sebesar $0,790 \pm 0,692^a \mu\text{g/mL}$ atau mengalami peningkatan sebesar 98,49%. Pada kelompok P3 mengalami hasil yang menurun dengan kelompok lain dikarenakan pada saat pengelompokan tikus diambil secara acak, bukan karena faktor pengelompokan secara khusus. Sehingga mengalami perbedaan hasil kadar MDA. Dan juga dikarenakan kondisi tikus pada kelompok P3 yang bisa beradaptasi pada kondisi diberi perlakuan induksi minyak goreng campur plastik yang lebih baik dibandingkan dengan kelompok lain.

Peningkatan MDA dapat digunakan sebagai indikator kerusakan jaringan (Mudassir, 2012). Peningkatan radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan membran sel dan menyebabkan kondisi stres oksidatif. Hal ini terjadi karena jumlah radikal bebas dengan antioksidan intrasel

tidak seimbang dan dapat memicu terjadinya peroksidasi lipid dan dihasilkan produk akhir berupa malondialdehida. Penggunaan minyak goreng yang dipanaskan berulang sebanyak 5 kali pada suhu 216°C terhadap makanan harian tikus dapat menimbulkan kelainan fertilitas, toksisitas kehamilan, dan berat badan yang menurun pada usia kehamilan (Isong dkk, 1997). Beberapa kerusakan lain dapat terjadi karena penggunaan minyak goreng yang dipanaskan secara berulang. Penurunan adanya daya absorpsi pada usus terhadap glukosa dan cairan. Hal ini terjadi karena berkurangnya kedalaman, lebar, jumlah vili dan jumlah sel serta luas permukaan usus akibat kontak dengan minyak yang teroksidasi (Obembe *et al.*, 2011).

Stres oksidatif didefinisikan sebagai suatu keadaan dimana terjadi ketidakseimbangan antara pro oksidan dan antioksidan di dalam tubuh (Powers dan Jackson, 2008). Lebih lanjut, Yoshikawa dan Naito (2002) mendefinisikan stres oksidatif sebagai suatu keadaan dimana proses oksidasi melampaui sistem pertahanan antioksidan di dalam tubuh sehingga terjadi ketidakseimbangan pada sistem tersebut. Finaud dkk (2006) memperkuat pernyataan tersebut dengan menjelaskan bahwa stres oksidatif dapat terjadi karena adanya ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas dengan sistem pertahanan antioksidan di dalam tubuh.

Istilah stres oksidatif juga didefinisikan sebagai suatu keadaan dimana terjadi peningkatan level *Reactive Oxygen Species* (ROS) (Paravicini dan Touyz, 2008). Peningkatan *Reactive Oxygen Species* (ROS) tersebut dapat terjadi sebagai akibat dari metabolisme oksigen, reperfusi oksigen saat kondisi hipoksia, oksidasi hemoglobin dan mioglobin, dan lain-lain (Finaud dkk, 2006). *Reactive Oxygen Species* (ROS) dalam jumlah normal berperan pada berbagai proses fisiologis seperti sistem pertahanan, biosintesis hormon, fertilisasi, dan sinyal seluler (Paravicini dan Touyz, 2008). *Reactive Oxygen Species* (ROS) juga berperan penting pada sistem kekebalan tubuh dengan melawan antigen selama proses

fagositosis (Finaud dkk, 2006). Akan tetapi, peningkatan produksi *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) yang dikenal dengan kondisi stres oksidatif memiliki implikasi pada berbagai macam penyakit seperti hipertensi, aterosklerosis, diabetes, gagal jantung, stroke, dan penyakit kronis lainnya (Paravicini dan Touyz, 2008).

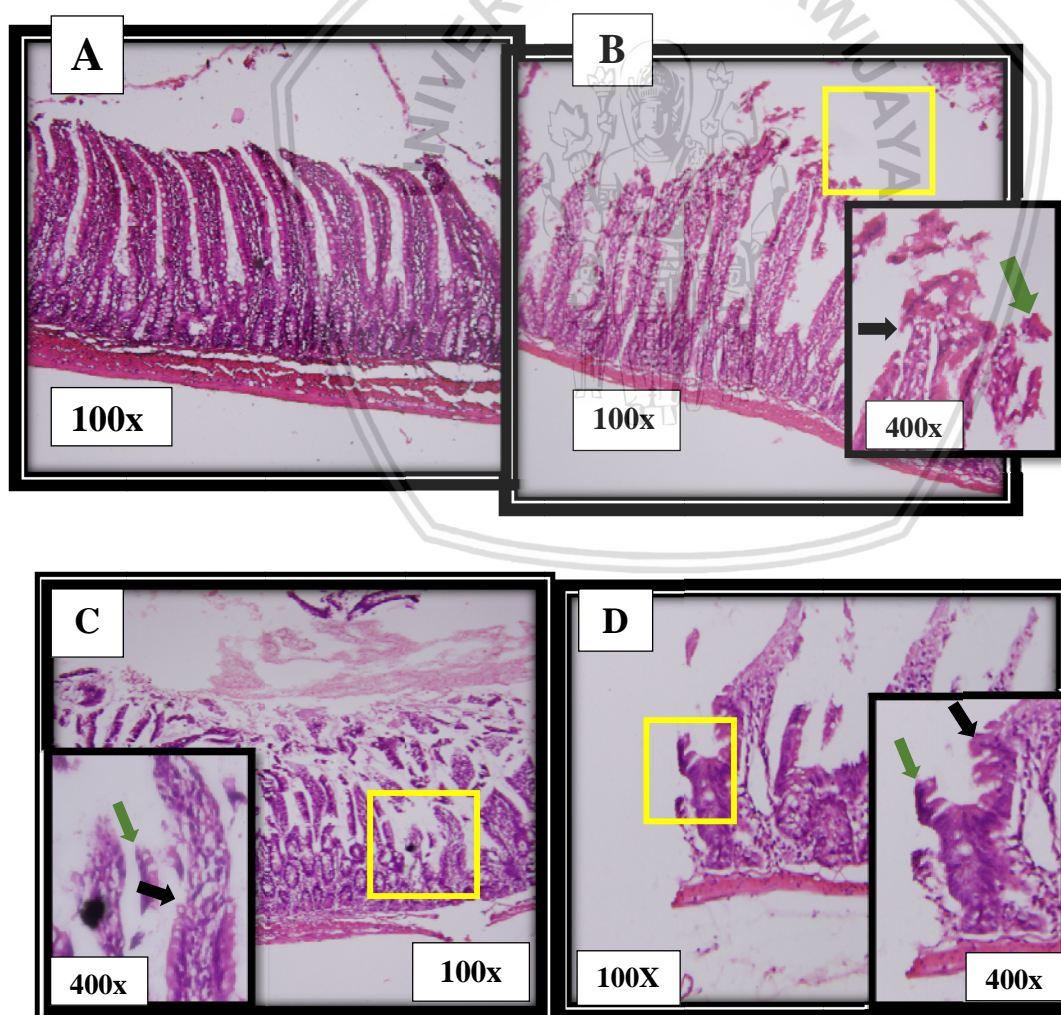
Stres oksidatif di dalam tubuh memiliki target kerusakan pada seluruh tipe biomolekul seperti protein, lipid, dan DNA (Wahyuni dkk, 2008), serta berperan pada proses penuaan dan pemicu terjadinya beberapa penyakit seperti kanker dan penyakit Parkinson (Finaud dkk, 2006). Stres oksidatif pada sistem biologis sering ditandai dengan beberapa parameter meliputi: (1) peningkatan formasi radikal bebas dan oksidan lainnya, (2) penurunan antioksidan, (3) ketidakseimbangan reaksi redoks pada sel, dan (4) kerusakan oksidatif pada komponen-komponen sel seperti lemak, protein, dan DNA (Powers dan Jackson, 2008).

Terdapat beberapa macam senyawa yang dapat dijadikan sebagai indikasi terjadinya stres oksidatif. Powers dan Jackson (2008) menyebutkan macam-macam senyawa yang dapat dijadikan sebagai indikator terjadinya stres oksidatif yaitu: (1) golongan oksidan meliputi *Superoxide anions*, *Hydroxyl radical*, *Hydrogen peroxide*, dan *Peroxynitrite*, (2) golongan antioksidan meliputi *Glutathione*, *Ascorbate*, *Alpha-tocopherol*, dan *Total antioxidant capacity*, (3) golongan penyeimbang antioksidan/pro-oksidan meliputi *GSH/GSSH ratio*, *Cysteine redox state*, dan *Thiol/disulfide state*, serta (4) golongan produk oksidasi meliputi *Protein carbonyls*, *Isoprostanes*, *Nitrotyrosine*, *8-OH-dG*, dan *Malondialdehyde* (MDA).

MDA merupakan hasil peroksidasi lipid yang memiliki tiga karbon dialdehid dengan reaktivitas tinggi, yang merupakan hasil peroksidasi polyunsaturated fatty acid (PUFA) (Marnette, 1999). Metabolisme asam arakhidonat, MDA juga digunakan untuk sintesis

prostaglandin. MDA sering digunakan sebagai indikator dari peroksidasi lipid dalam tubuh, MDA dihasilkan melalui proses enzimatik dan nonenzimatik. MDA dihasilkan dari dekomposisi asam arakhidonat dan PUFA melalui proses enzimatik dari biosintesis tromboksan A₂ (TXA₂) dan 12-l-hydroxy-5,8,10-heptadecatrienoic acid (HHT). Secara nonenzimatik, MDA diproduksi sebagai hasil dari proses peroksidasi lipid akibat radikal bebas. Radikal bebas mengoksidasi PUFA melalui serangkaian proses hingga terbentuk MDA (Losada, 1997).

5.2 Uji Toksisitas Campuran Minyak Goreng dan Plastik terhadap Histopatologi pada Organ Jejunum Tikus Putih (*Rattus novergicus*)



Gambar 5.2 Histopatologi organ jejunum tikus (pewarnaan HE 100x dan 400x).

Keterangan : (A) kontrol negatif; (B) P2 jejunum tikus dosis 0,5 mL; (C) P3 jejunum tikus dosis 1,0 mL; (D) P4 jejunum tikus dosis 1,5 mL. () kematian sel epitel; () kerusakan struktur vili.

Pengamatan preparat histopatologi jejunum dengan pewarnaan *Hematoxyline Eosin* (HE) menggunakan perbesaran 100x dan 400x dengan mengamati struktur vili, sel epitel, dan sel goblet (Gambar 5.2). Secara normal, jejunum terdiri dari empat lapisan, yaitu tunika mukosa, tunika submukosa, muskularis eksterna, dan tunika serosa (Eroschenko, 2008).

Kelompok tikus sehat P1 (Gambar 5.2 A) menunjukkan gambaran histologi jejunum tikus sehat yang tanpa diberi perlakuan induksi minyak goreng campur plastik. Gambaran histopatologi kontrol negatif dan kontrol positif yang diamati adalah perubahan pada struktur vili dan sel epitel. Pengamatan dilakukan untuk mengetahui perubahan gambaran histopatologi kontrol positif setelah diberi perlakuan induksi minyak goreng campur plastik secara peroral.

Kelompok tikus sakit P2 (Gambar 5.2 B) menunjukkan adanya kerusakan pada struktur vili, inti sel rusak dan rapat, beberapa sel goblet tidak terlihat, kelenjar intestine tidak terlihat, kematian sel epitel. Hal ini menyebabkan aktivitas di mitokondria menjadi terganggu dan memicu terjadinya radikal bebas. Peningkatan radikal bebas akan memicu munculnya peroksidasi lipid dan terjadinya kematian sel melalui jalur apoptosis intrinsik yang diawali dengan hilangnya potensial membran mitokondria yang dapat melepaskan cytochrome c ke cytosol (Murphy, 2009).

Kelompok tikus sakit P3 (Gambar 5.2 C) menunjukkan kerusakan pada struktur vili, inti sel rusak, vili rusak, kelenjar intestine masih terlihat, kematian sel epitel yang lebih banyak dari kelompok P2. Hal ini dikarenakan pemberian dosis minyak campuran plastik dengan dosis 1 mL bisa menyebabkan adanya kerusakan pada struktur vili dan kematian sel epitel pada jejunum dan juga meningkatnya radikal bebas yang memicu munculnya peroksidase lipid.

Kelompok tikus sakit P4 (Gambar 5.2 D) menunjukkan adanya kerusakan pada struktur vili, inti sel menghilang, sel epitel rusak, sel goblet banyak yang hilang, kelenjar intestine tidak terlihat, kematian sel epitel yang lebih luas dari kelompok P3. Hal ini dikarenakan pemberian dosis minyak goreng campuran plastik dengan dosis 1,5 mL dapat menyebabkan kerusakan pada struktur vili dan kematian sel epitel yang lebih luas. Vili berfungsi untuk memperluas permukaan penyerapan, sehingga proses absorpsi nutrisi dapat berjalan dengan baik (Abdullah, 2007). Kerusakan struktur vili terjadi karena kematian dari sel epitel. Menurut Dambal (2012), munculnya peroksidasi lipid dapat mempengaruhi fluiditas, struktur dan fungsi membran sel.

Plastik polyethylen banyak dijumpai di masyarakat karena dapat menyimpan makanan atau minuman, penggunaan plastik dalam jangka waktu lama akan menimbulkan masalah berupa berbagai penyakit seperti, iritasi kulit, gangguan pernafasan, keguguran, gangguan ginjal, hati. Penggunaan plastik dianjurkan hanya sekali pakai.

Komponen plastik mempunyai sifat kimiawi yang berupa monomer-monomer plastik dan terdapat zat aditif lain berupa plasticizer, pewarna dan antioksidan mampu bermigrasi atau berpindah ke makanan. Bahan – bahan kimia tersebut bersifat karsinogenik. Jika dikonsumsi dan terakumulasi dalam tubuh dapat berakibat pada gangguan kesehatan. Selain karena sifat kimia plastik, faktor lama penyimpanan juga berpengaruh. Semakin lama penyimpanan antara kemasan dan makanan, akan berpengaruh pada sifat karsinogenik yang bertambah banyak dari sifat kimiawi plastik yang masuk ke dalam makanan (Sulchan, 2007).

Berdasarkan sebuah penelitian yang diterbitkan dalam Environmental Health Perspectives, dijelaskan bahwa bahan kimia yang digunakan dalam plastik, seperti *bisphenol A diglisidil eter* (BADGE), benar-benar dapat menyebabkan sel-sel induk menjadi sel-sel lemak. Hal ini

membuat metabolisme di dalam tubuh terprogram ulang sehingga memungkinkan bagi tubuh untuk menyimpan lebih banyak kalori yang menyebabkan risiko obesitas. (Choice,2017).

Hasil penelitian yang dilakukan, pemberian minyak terkontaminasi komponen plastik dapat menyebabkan kerusakan secara histopatologi pada jejunum, ditandai dengan rusaknya struktur vili dan kematian sel epitel organ jejunum dan meningkatnya kadar MDA pada organ jejunum. Minyak terkontaminasi komponen plastik mengandung senyawa radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan pada epitel jejunum. Akumulasi senyawa radikal bebas dari minyak terkontaminasi plastik inilah yang mengakibatkan toksik pada organ jejunum, sehingga terjadi kerusakan pada epitel jejunum dan rusaknya struktur vili.

Penelitian yang dilakukan pengaruh pemberian minyak goreng terkontaminasi plastik mengakibatkan peningkatan kadar MDA dan terbentuknya kerusakan pada struktur vili dan kematian sel epitel pada jejunum. Di dalam campuran minyak goreng dan plastik terdapat zat polyethylene dan radikal bebas yang tinggi memiliki dampak berbahaya bagi tubuh terutama organ pencernaan yang disebabkan zat tersebut diserap kedalam jaringan dan sel organ pencernaan yang mengakibatkan gangguan fungsional dan kerusakan pada jaringan organ pencernaan. Konsumsi terus menerus dari minyak terkontaminasi komponen plastik dapat mengakibatkan kelainan serta gangguan fungsi pada organ pencernaan khususnya jejunum karena kerusakan jaringan yang juga terus bertambah.

BAB 6 PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa

1. Minyak goreng yang tercampur plastik dapat meningkatkan kadar MDA pada jejunum.
2. Minyak goreng yang tercampur plastik dapat menyebabkan kerusakan histopatologi pada struktur villi dan kematian sel epitel jejunum

6.2 Saran

Pada penelitian selanjutnya untuk mengetahui kerusakan pada organ tubuh yang lainnya dan dapat menemukan cara untuk mengurangi kerusakan pada organ pencernaan.

DAFTAR PUSTAKA

- Anwar, R. W. 2012. *Studi Pengaruh Suhu dan Jenis Bahan Pangan Terhadap Stabilitas Minyak Kelapa Selama Proses Penggorengan*. UNHAS: Makassar.
- Azizi, A.F. 2014. *Aplikasi LED dan Photodiode Sebagai Sistem Deteksi Minyak Goreng Tercampur Plastik [SKRIPSI]*. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga. Yogyakarta.
- Besselsen, D.G. 2004. *Biology of Laboratory Rodent*. Medical Books: New York.
- Cahanar, P. & I. Suhandi, 2006. *Makan Sehat Hidup Sehat*. Kompas Media Utama: Jakarta.
- Choise, 2013 <https://www.choice.com.au/food-and-drink/food-warnings-and-safety/plastic/articles/plastics-and-food>. Diakses 13 April 2013.
- Dewi, M. T. I. & N. Hidajati. 2012. *Peningkatan Mutu Minyak Goreng Curah Menggunakan Adsorben Bentonit Teraktivasi*. Journal of Chemistry 1 : UNESA.
- Direktorat Pengawasan Produk dan Bahan Berbahaya Badan Pengawas Obat dan Makanan RI. 2008. Materi Talkshow di RRI tentang Kemasan Pangan.
- Effendi, Z. 2003. *Peranan Leukosit Sebagai Anti Inflamasi Alergi dalam Tubuh*. Fakultas Kedokteran. UNSU: Sumatera Utara.
- Fadillah, R. 2013. *Hati-Hati Membeli Gorengan*. http://nutrisihattanpaefek_samping.com/2013/04/hati-hati-saat-membeli-gorengan.html. Diakses tanggal 29 Maret 2016.
- Fauziah, S. Sirajuddin., dan U. Najamuddin . 2013. *Analisis Kadar Asam Lemak Bebas Dalam Gorengan dan Minyak Bekas Hasil Penggorengan Makanan Jajanan di Workshop UNHAS*. Fakultas Kesehatan Masyarakat. UNHAS: Makassar.
- Finaud, J., G. Lac, dan E. Filaire, 2006. Oxidative Stress, Relationship with Exercise and Training. *Journal Sports Med*, 36(4): 327-358.

- Kee & Hayes. 1993. *Farmakologi. Pendekatan Proses Keperawatan*. Buku Kedokteran ECG: Jakarta.
- Ketaren, S. 2008. *Minyak dan Lemak Pangan*. Jakarta: UI-Press.
- Kulkarni, M. G. And A. K. Dalai, 2006, Waste Cooking Oil-An Economical Source for Biodiesel: A Review, Ind. Eng. Chem. Res.
- Kusriningrum, RS., 2008, Buku Ajar Perancangan Percobaan, Fakultas kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Dani Abadi, Surabaya
- Kusumaningrum D. 2008. Pemetaan Karakteristik Komponen Polifenol untuk Mencegah Kerusakannya pada Minuman Teh Ready to Drink (RTD) [Skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor
- Losada M.JL.Alio (1997) Malondialdehyde serum concentration in type 1 diabetic with and without retinopathy Documenta Ophthalmologica. 93:223-229.
- Matthew, Hoffman, 2013 <http://www.webmd.com/food-recipes/features/cookware-plastics-shoppers-guide-to-food-safety#1> diakses 13 April 2013.
- Marnette L.J. (1999) Generation of mutagens during arachidonic acid metabolism. Cancer Metastas Rev. 13:303-308.
- Moriwaki, K, T. Shiroishi, H. Yonekawa. 2000. *Genetic in Wild Mice. Its Application to Biomedical Research*. Tokyo: Japan Scientific Societies Press. Karger.
- Mualifah, S. 2009. *Penentuan Angka Asam Thiobarbiturat dan Angka Peroksida pada Minyak Goreng Bekas Hasil Pemurnian dengan Karbon Aktif dari Biji Kelor (Moringa Oleifera, Lamk)*. Under Graduate. UIN: Malang.
- Murti, A. 2003. *Studi Anatomi Organ-Organ Pencernaan (Digesti) Kuskus Bertotol (Spilococcus maculatus)* [SKRIPSI]. FPIK. UNP: Manokwari.
- Nurminah, M. 2002. *Penelitian Sifat Berbagai Bahan Kemasan Plastik dan Kertas Serta Pengaruhnya Terhadap Bahan yang Dikemas*. Fakultas Pertanian. UNSU: Sumatera Utara.
- Paravicini, T.M. dan R.M. Touyz, 2008. NADPH Oxidase, Reactive Oxygen Species, and Hypertention. *Journal Diabetes Care*, 31(2): S170-S180.
- Potter, WP. 2007. *Rats and Mice*. Introduction and use In Research Health Sciences Center for Educational Resources university of Washington: Amerika Serikat.
- Powers, S.K. dan M.J. Jackson, 2008. Exercise-Induced Oxidative Stress: Cellular Mechanisms and Impact on Muscle Force Production. *Journal Physiol Rev*, 88: 1243-1276.

- Saktiyono. 2004. *IPA BIOLOGI SMP dan MTS Jilid 2*. Esis. Erlangga: Jakarta.
- Sari, D. M. 2003. *Studi Keamanan dan Cemaran Logam Berat (Pb dan Cu) Makanan Jajanan di Bursa Kue Subuh Pasar Senen, Jakarta Pusat*. Under Graduate. IPB: Bogor.
- Slomianka, L. 2009. *Blue Histology – Muscle*. School of Anatomy and Human Biology - The University of Western Australia.
- Srindati. 2016. *Fungsi Organ Jejunum*. <http://www.sridianti.com/fungsi-jejunum.html>. Diakses tanggal 18 Maret 2016.
- Sudiono, J., B. Kurniadhi., A. Hendrawan., dan B. Djimantoro., 2001. *Penuntun Praktikum Patologi Anatomi*. Penerbit Buku Kedokteran ECG: Jakarta.
- Sulchan, M. & N. W Endang., 2007. *Keamanan Pangan Kemasan Plastik dan Styrofoam*. Program Pascasarjana. FK. UNDIP: Semarang.
- Sutiah, K. Sofjan Firdausi, Wahyu Setia Budi. 2008. *Pengukuran Transisi Minyak Goreng dalam Penentuan Kualitas Minyak Goreng*. Undip. Semarang.
- Trisnawan, Made Hathayana, 2015, Pengaruh Pemberian Ubi Ungu (*Ipomoea batatas*. L) terhadap Kadar Enzim Katalase Hepar dan Otak Pada Tikus Yang diberikan Minyak Jelantah. Fakultas Kimia. UNDIP: Semarang.
- Wahyuni, Asj'ari, S.R., dan A.H. Sadewa, 2008. Kajian Kemampuan Jus Buah Tomat (*Solanum lycopersicum*) dalam Menghambat Peningkatan Kadar Malondialdehyde Plasma Setelah Latihan Aerobik Tipe High Impact. *Jurnal Kesehatan*, 1(2): 123-132.
- Winarno, F.G. 1994. *Bahan Tambahan untuk Makanan dan Kontaminan*. Pusat Sinar Harapan: Jakarta.
- Wolfensohn, S. E. dan M.H. Lloyd. 2003. *Handbook of Laboratory Animal Management and Welfare, 3rd edition*. London : Blackwell Science, Oxford University.
- Živkovic Irena, Raijnpreht Irena, Minij Rajna, Mitic Katarina, Aleksic Iva, Kadric Jasminka, Petrusic Vladimir, 2016, CHARACTERIZATION OF INTOR:SWISS ALBINO MICE ADOPTED IN THE INSTITUTE OF VIROLOGY, VACCINES AND SERA – TORLAK, BELGRADE IN THE EARLY TWENTIETH CENTURY, Institute of Virology, Vaccines and Sera – Torlak, Department of Research and Development, Vojvode Stepe 458, Belgrade, Serbia.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Sertifikasi Laik Etik



**KOMISI ETIK PENELITIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
"ETHICAL CLEARENCE"**

No:616-KEP-UB

**KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**
TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA:

PENELITIAN BERJUDUL : UJI TOKSISITAS CAMPURAN MINYAK GORING BEKAS
DENGAN PLASTIK TERHADAP KADAR MDA (MELANDIALDEHIDE DAN HISTOPATOLOGI ORGAN
JEJUNUM PADA HEWAN COBA TIKUS (*Rattus norvegicus*)

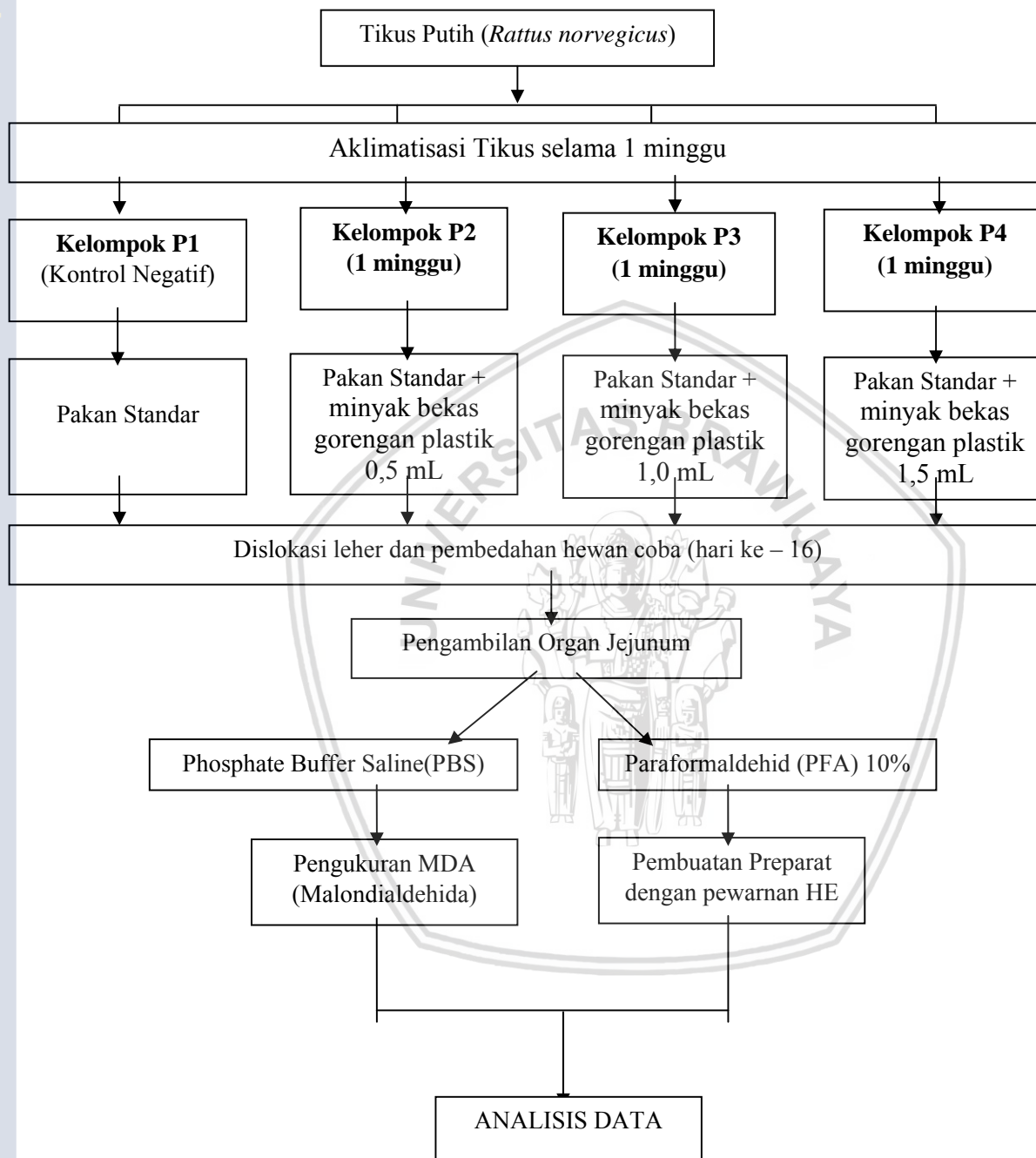
PENELITI : RUMENEGA NUGRAHA E
UNIT/LEMBAGA/TEMPAT : UNIVERSITAS BRAWIJAYA
DINYATAKAN : LAIK ETIK

Malang, 12 September 2016
Ketua Komisi Etik Penelitian
Universitas Brawijaya

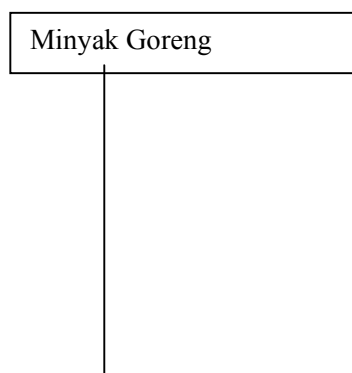


Prof. Dr. drh. Aulanni'am, DES.
NIP. 19600903 198802 2 001

Lampiran 2. Kerangka Operasional



Lampiran 3. Pemberian Minyak Bekas Gorengan Plastik



- tuangkan ± 200 ml pada wajan penggorengan
- panaskan hingga mendidih
- ambil 1 buah plastik polietilen
- masukkan plastik polietilen ke dalam minyak panas
- tunggu selama ± 5 menit
- dinginkan di suhu ruang
- berikan ke hewan coba dengan menggunakan sonde lambung sesuai dosis perlakuan

Hasil



Lampiran 4. Pembuatan Preparat Histopatologi Jejunum

Hewan Coba (Tikus Putih)

- bedah dan diambil bagian jejunum
- bersihkan dengan NaCl fisiologis
- fiksasi dalam PFA 10%
- ambil dan direndam dalam alkohol 70% selama 24 jam
- masukkan dalam alkohol 80% selama 2 jam
- masukkan dalam alkohol 90% selama 20 menit
- masukkan dalam alkohol 95% selama 20menit diulang 3 kali
- pindahkan dalam dalam alkohol 100% selama 3 x 30 menit pada suhu ruang
- masukkan dalam larutan xylol I selama 60 menit pada suhu ruang
- masukkan dalam larutan xylol II selama 60 menit pada suhu 60-63°C
- masukkan dalam larutan xylol III selama 30 menit pada suhu ruang dan 30 menit pada suhu inkubator
- masukkan dalam parafin cair selama 3 x 60 menit pada suhu 56-68°C
- dinginkan pada suhu 4°C
- iris dengan *microtome* setebal 4 – 5 µm
- dinginkan di atas air dingin
- masukkan dalam air hangat pada suhu ruang 37°C
- Preparat jejunum disimpan dalam inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam

Preparat jejunum siap pewarnaan

Lampiran 5. Pewarnaan *Hematoxyline Eosin* (HE)

Preparat jejunum siap pewarnaan

- deparafinisasi dengan dimasukkan dalam xylol I dan II masing-masing selama 5 menit

- masukkan dalam alkohol 100 % selama 5 menit
- masukkan dalam alkohol 90 % selama 5 menit
- masukkan dalam alkohol 80 % selama 5 menit
- cuci dengan air mengalir selama 1 menit
- masukkan dalam Hematoxyline selama 5 menit
- cuci dengan air mengalir selama 1 menit
- masukkan dalam *Hydrochloric acid* (HCl) 0.6 % selama 1 menit
- cuci dengan air mengalir selama 1 menit
- masukkan dalam Lithium carbonate 0,5 % selama 3 menit
- cuci dengan air mengalir selama 1 menit
- masukkan dalam eosin selama 3 menit
- masukkan dalam alkohol 80 % selama 5 menit
- masukkan dalam alkohol 90 % selama 5 menit
- masukkan dalam alkohol 100 % selama 5 menit
- masukkan dalam xylol I dan II selama 1 menit
- tunggu sampai kering
- beri *canada balsam* dan ditutup *cover glass*

Preparat jejunum siap diamati



Lampiran 6. Malondialdehyde (MDA)**6.1 Pembuatan Kurva Standar MDA**

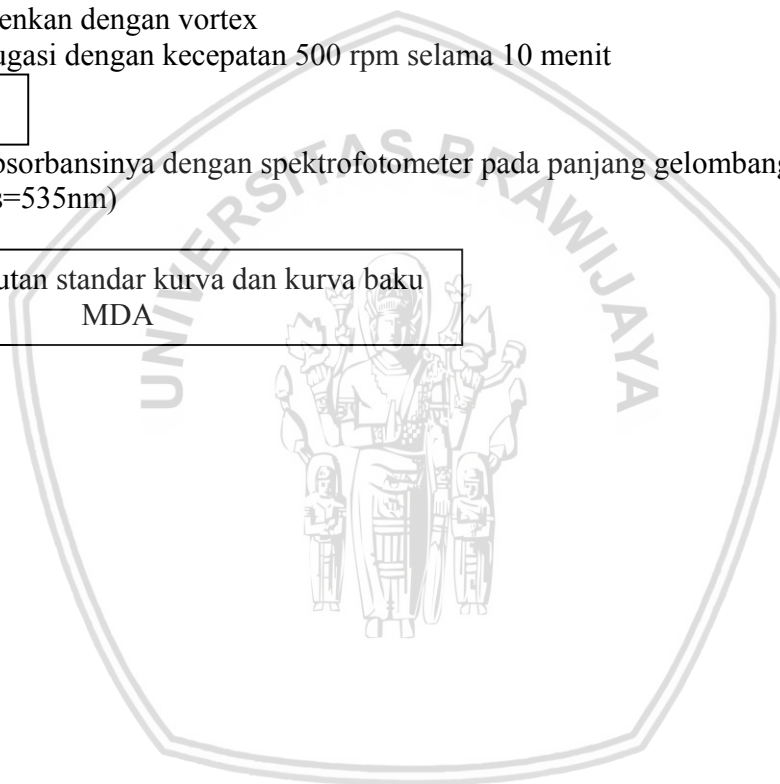
100 μL stok kit standar MDA konsentrasi
1,2,3,4,5,6,7, dan 8 mg/mL

- masukkan dalam tabung reaksi yang berbeda
- tambahkan 550 μL akuades
- tambahkan 100 μL TCA 100%
- homogenkan
- tambahkan 250 μL HCl 1N
- tambahkan 100 μL Na-Thio 1%
- homogenkan dengan vortex
- sentrifugasi dengan kecepatan 500 rpm selama 10 menit

Supernatan

- ukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimal ($\lambda_{\text{maks}}=535\text{nm}$)

Absorbansi larutan standar kurva dan kurva baku
MDA



6.2 Pengukuran Kadar Malondialdehyde (MDA) menggunakan Uji TBA

0,5 gram organ jejunum

- masukkan dalam mortar dingin dan digerus hingga halus
- masukkan ke tabung reaksi
- tambahkan 500 μL NaCl 0,9%
- homogenkan
- Homogenat dipindahkan ke *microtube*
- Sentrifugasi dengan kecepatan 8000 rpm selama 20 menit

Supernatan

- 100 μL supernatan dimasukkan ke dalam tabung reaksi baru
- tambahkan 550 μL akuades
- homogenkan
- tambahkan 100 μL TCA
- homogenkan
- tambahkan 250 μL HCL 1N
- homogenkan
- tambahkan 100 μL Na-Thio 1%
- homogenkan
- Mulut tabung ditutup dengan aluminium foil
- inkubasi dalam waterbath dengan suhu 100°C selama 30 menit
- dinginkan disuhu ruang
- sentrifugasi dengan kecepatan 500 rpm selama 10 menit

Supernatan

- pindahkan ke tabung reaksi baru
- ukur absorbansinya dengan spektrofotometer (λ_{maks} -535nm)
- plotkan pada kurva standar

Kurva Standar MDA

Lampiran 7. Hasil Uji Statistika Kadar MDA (Malondealdehyde) Minyak Goreng yang Terkontaminasi Plastik.

7.1 Uji Deskriptif

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
N	5	.3898	.09683	.04331	.2696	.5100	.25	.49
D	5	.7228	.07959	.03560	.6240	.8216	.62	.81
T	5	.6900	.07338	.03281	.5989	.7811	.59	.77
O	5	.7906	.06925	.03097	.7046	.8766	.71	.88
Total	20	.6483	.17402	.03891	.5669	.7297	.25	.88

7.2 Uji normalitas data

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Residual for Interleukin6
N		20
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	.0000
	Std. Deviation	.17402
Most Extreme Differences	Absolute	.156
	Positive	.091
	Negative	-.156
Test Statistic		.156
Asymp. Sig. (2-tailed)		.200 ^{c,d}

Data bersifat normal jika $p < 0,05$. Hasil uji normalitas menunjukkan data terdistribusi secara normal.

7.3 Uji Homogenitas Data

Test of Homogeneity of Variances

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.432	3	16	.733

Data bersifat homogeny jika $p < 0,05$. Uji homogenitas menunjukkan bahwa data bersifat homogeny pada tiap ulangan pada semua kelompok perlakuan.

7.4 ANOVA

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.472	3	.157	24.297	.000
Within Groups	.104	16	.006		
Total	.575	19			

Hasil uji ANOVA menunjukkan $p < 0,05$, yang berarti bahwa setiap perlakuan yang diberikan pada semua kelompok menunjukkan pengaruh yang memiliki beda signifikan.

7.5 Post Hoc

Multiple Comparisons

Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
N	D	-.33300 [*]	.05088	.000	-.4786	-.1874
	T	-.30020 [*]	.05088	.000	-.4458	-.1546
	O	-.40080 [*]	.05088	.000	-.5464	-.2552
D	N	.33300 [*]	.05088	.000	.1874	.4786
	T	.03280	.05088	.916	-.1128	.1784
	O	-.06780	.05088	.557	-.2134	.0778
T	N	.30020 [*]	.05088	.000	.1546	.4458
	D	-.03280	.05088	.916	-.1784	.1128
	O	-.10060	.05088	.237	-.2462	.0450
O	N	.40080 [*]	.05088	.000	.2552	.5464
	D	.06780	.05088	.557	-.0778	.2134
	T	.10060	.05088	.237	-.0450	.2462

7.6 Homogenitas

Tukey HSD^a

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
N	5	.3898	
T	5		.6900
D	5		.7228
O	5		.7906
Sig.		1.000	.237

Lampiran 8. Tabel deskriptif Histopatologi

Kelompok Histopatologi	Deskriptif
Histopatologi A (P1)	<ul style="list-style-type: none"> • Sel terbentuk columnar simplex • Epitel terlihat utuh columnar simplex • Adanya sel goblet • Adanya mikro vili • Terdapat kelenjar intestin
Histopatologi B (P2)	<ul style="list-style-type: none"> • Inti sel terlihat rusak • Vili terlihat rusak • Inti sel terlihat rapat/menumpuk pada sel epitel • Beberapa sel goblet tidak terlihat • Kelenjar intestine tidak terlihat
Histopatologi C (P3)	<ul style="list-style-type: none"> • Inti sel terlihat rusak • Vili terlihat rusak • Inti sel terlihat rapat/menumpuk pada sel epitel • Terlihat sel goblet • Kelenjar intestine masih terlihat
Histopatologi D (P4)	<ul style="list-style-type: none"> • Inti sel mulai hilang • Sel epitel rusak • Sel goblet banyak yang hilang • Vili mulai rusak • Kelenjar intestine tidak terlihat